

Aus der
Klinik und Poliklinik für Hals-Nasen-Ohrenheilkunde,
Kopf- und Halschirurgie „Otto Körner“,
Universitätsmedizin Rostock
Direktor: Prof. Dr. R. Mlynski

Bedeutung der Optischen Kohärenztomografie und der
Starren Konfokalen Endomikroskopie
in der Diagnostik
von prämaligen Läsionen der Mundhöhle

Dissertation
zur Erlangung des akademischen Grades
Doktor der Medizin (Dr. med.)
der Medizinischen Fakultät
der Universität Rostock

vorgelegt von

Franziska Berger
geb. am 05.08.1990 in Magdeburg
Rostock, 14.12.2017

Dekan: Prof. Dr. med. univ. Emil C. Reisinger

Gutachter:

- Prof. Dr. T. Just, KMG Klinikum Güstrow GmbH, Klinik für Hals-, Nasen-, Ohrenheilkunde, Kopf- und Hals-Chirurgie
- PD Dr. Dr. B. Saka, Universitätsmedizin Rostock, Klinik und Poliklinik für Mund-, Kiefer- und Plastische Gesichtschirurgie
- Prof. Dr. K. Sommer, Niels- Stensen- Kliniken, Marienhospital Osnabrück, Klinik für Hals- Nasen- Ohrenheilkunde, Kopf- und Halschirurgie

Jahr der Einreichung: 2017

Jahr der Verteidigung: 2018

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	V
Tabellenverzeichnis.....	VII
Symbol- und Abkürzungsverzeichnis.....	IX
1 Einleitung	1
1.1 Anatomie und Funktion der Mundhöhle	2
1.2 Das Mundhöhlenkarzinom	4
1.2.1 Neue Edition der WHO-Klassifikation der Kopf-Hals-Tumore	4
1.2.2 Epidemiologie und Risikofaktoren	5
1.3 Vorläuferläsionen des Mundhöhlenkarzinoms	8
1.3.1 Diagnostik von Vorläuferläsionen des Mundhöhlenkarzinoms	9
1.4 Die Optische Kohärenztomografie (OCT)	13
1.4.1 Anwendung der OCT	16
1.5 Starre konfokale Endomikroskopie (CEM).....	17
1.5.1 Anwendung der konfokalen Laser Scanning Mikroskopie	19
1.5.2 Der Heidelberg-Retina-Tomograf und das starre konfokale Endoskop	20
1.6 Problemstellung	21
1.6.1 Diagnostik von unklaren Schleimhautveränderungen der Mundhöhle	21
1.6.2 Makroskopische Beurteilung von unklaren Schleimhautveränderungen der Mundhöhle	21
1.7 Zielsetzung.....	22
2 Material und Methoden	23
2.1 Beurteilung von Läsionen der Mundhöhle mittels OCT und CEM	23
2.1.1 Studiendesign, Kontrollgruppe und Patienten	23
2.1.2 Einteilung der Befunde nach einem binären System	23
2.1.3 Optische Kohärenztomografie	24
2.1.3.1 Apparatur	24
2.1.3.2 Intraoperative Anwendung.....	25
2.1.3.3 Auswertung der OCT-Bilder.....	25
2.1.3.4 Erläuterung der Cutoff Setzung	29
2.1.4 Konfokale Endomikroskopie	29
2.1.4.1 Apparatur	29
2.1.4.2 Intraoperative Anwendung.....	31
2.1.4.3 Auswertung der CEM-Bilder	32
2.1.5 Auswertung der mittels Histologie, CEM und OCT eingestufteten Läsionen..	34
2.2 Klinische Pilotstudie zur makroskopischen Beurteilung schwer einschätzbarer Läsionen der Mundhöhle	34
2.2.1 Ziel der klinischen Pilotstudie	34

2.2.2	Methodisches Vorgehen	34
2.2.3	Auswertung der klinischen Pilotstudie	37
2.3	Histopathologische Untersuchung der Biopsien und Resektionsproben	37
2.4	Bestimmung der Kriterien der diagnostischen Güte	37
2.5	Computersoftware.....	39
3	Ergebnisse	40
3.1	Ergebnisse der Beurteilung der Läsionen mittels Optischer Kohärenztomografie..	40
3.1.1	Messergebnisse der Epithelien der Kontrollgruppe	40
3.1.2	Messergebnisse der Epithelien der Untersucherguppe.....	41
3.2	Ergebnisse der Beurteilung der Läsionen mittels Konfokaler Endomikroskopie....	42
3.2.1	Messergebnisse der Epithelien der Kontrollgruppe	42
3.2.2	Messergebnisse der Epithelien der Untersucherguppe.....	42
3.3	Ergebnisse der Beurteilung der Läsionen mit Hilfe der Kombination beider Verfahren (OCT und CEM)	44
3.4	Tabellarische Zusammenfassung der Ergebnisse.....	45
3.5	Ergebnisse der klinischen Pilotstudie zur blickdiagnostischen Beurteilung der Läsionen	46
3.6	OCT- und CEM-Aufnahmen verschiedener Schweregrade (Beispiele).....	47
3.6.1	Benigne Veränderungen.....	47
3.6.2	Dysplastisches Epithel.....	49
3.6.3	CIS/mikroinvasives Karzinom	52
4	Diskussion	55
4.1	Vorgehen nach Leitlinie bei Läsionen der Mundhöhle	55
4.2	Kombination von OCT und CEM.....	56
4.3	Einteilung der Dysplasiegrade	58
4.4	Diskussion der klinischen Wertigkeit der OCT	59
4.4.1	Problematik der physiologischen Epitheldicke und der Cutoff Setzung.....	63
4.5	Diskussion der klinischen Wertigkeit der CEM	67
4.5.1	Problematik der Auswertung der CEM-Bilder	69
4.6	Diskussion der klinischen Wertigkeit der kombinierten Anwendung von OCT und CEM	71
4.7	Diskussion der klinischen Pilotstudie	73
5	Ausblick	75
6	Zusammenfassung.....	78
7	Literaturverzeichnis	79
8	Anhang	89

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Einblick in die Mundhöhle mit teilweise eröffneter Gaumenschleimhaut.	3
Abb. 2: Inzidenz der Karzinome von Mundhöhle und Rachen im Jahr 2013, Fallzahlen in Deutschland.	5
Abb. 3: Mortalität verursacht durch Karzinome von Mundhöhle und Rachen im Jahr 2013, Fallzahlen in Deutschland.	6
Abb. 4: T-Stadium bei Erstdiagnose von Karzinomen der Mundhöhle und des Rachens.	7
Abb. 5: Schematische Darstellung des Laserlichts.	13
Abb. 6: Prinzip der Interferometrie.	14
Abb. 7: Schematische Darstellung der Generierung eines A-Scans durch die SD- OCT.	15
Abb. 8: Beispielbild einer OCT-Aufnahme der Wangenschleimhaut.	17
Abb. 9: Prinzip der Laser-Scanning-Konfokalmikroskopie.	18
Abb. 10: Beispielbild einer LSCM-Aufnahme der gesunden Wangenschleimhaut.	20
Abb. 11: Aufbau des OCT-Gerätes.	24
Abb. 12: OCT-Bild einer gesunden Unterlippe.	27
Abb. 13: Starres konfokales Endoskop.	30
Abb. 14: Aufbau des CEM-Gerätes.	31
Abb. 15: CEM-Bild einer gesunden Unterlippe.	33
Abb. 16: Bilder von schwer einzuschätzenden Läsionen der Mundhöhle.	35
Abb. 17: Bilder der schwer einzuschätzenden Läsionen der Mundhöhle mit definierten Arealen.	36
Abb. 18: Klinische Leukoplakien der Wangenschleimhaut mit Lichenifikation und dazugehörige OCT-Aufnahme.	47
Abb. 19: CEM-Aufnahmen der klinischen Leukoplakie der Wangenschleimhaut im Oberflächenscan.	48
Abb. 20: CEM-Aufnahmen der klinischen Leukoplakie der Wangenschleimhaut im Tiefenscan.	48
Abb. 21: Beispiel einer Leukoplakie des vorderen Mundbodens und dazugehörige histologische Abbildung.	49
Abb. 22: Fotografie einer Leukoplakie des vorderen Mundbodens und OCT- Volumenscan der Läsion.	50

Abb. 23: OCT-Aufnahme der Leukoplakie des vorderen Mundbodens.....	50
Abb. 24: CEM-Aufnahme der Leukoplakie des vorderen Mundbodens.	51
Abb. 25: Klinisches Bild eines mikroinvasiven Karzinoms des Mundbodens.....	52
Abb. 26: OCT-Aufnahme des mikroinvasiven Karzinoms des Mundbodens.....	53
Abb. 27: CEM-Aufnahmen des mikroinvasiven Karzinoms des Mundbodens.	54
Abb. 28: Scan der Lippe in 0-80 μm Tiefe.....	92
Abb. 29: Scan der Lippe in 81-160 μm Tiefe.....	93
Abb. 30: Scan der Lippe in 161-240 μm Tiefe.....	93
Abb. 31: Scan der Lippe in 241-320 μm Tiefe.....	94
Abb. 32: Scan des Mundbodens in 0-80 μm Tiefe.	94
Abb. 33: Scan des Mundbodens in 81-160 μm Tiefe.	95
Abb. 34: Scan der Wange in 0-80 μm Tiefe.	95
Abb. 35: Scan der Wange in 81-160 μm Tiefe.	96
Abb. 36: Scan der Wange in 161-240 μm Tiefe.	96
Abb. 37: Scan der Zunge in 0-80 μm Tiefe.	97
Abb. 38: Scan der Zunge in 81-160 μm Tiefe.	97
Abb. 39: OCT-Bild einer gesunden Wangenschleimhaut.....	98
Abb. 40: Scanparameter zu Abb. 39.	99
Abb. 41: OCT-Bild eines gesunden Mundbodens.....	100
Abb. 42: Scanparameter zu Abb. 41.	101

Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Zytologische und architektonische Eigenschaften der oralen epithelialen Dysplasie	10
Tab. 2: Zusammenfassung der Klassifikationssysteme der oralen Dysplasien	11
Tab. 3: Publierte durchschnittliche Epitheldicke und von uns gesetzter Cutoff.	29
Tab. 4: Beispiel einer Vierfeldertafel	38
Tab. 5: Ermittelte Normalwerte der Epitheldicke der Mundhöhle.....	41
Tab. 6: Ergebnisse der mittels OCT und Histologie begutachteten Läsionen.....	41
Tab. 7: Diagnostische Gütekriterien der OCT	42
Tab. 8: Ergebnisse der mittels CEM und Histologie begutachteten Läsionen	43
Tab. 9: Diagnostische Gütekriterien der CEM.....	43
Tab. 10: Ergebnisse der mittels CEM und OCT und Histologie begutachteten Läsionen....	44
Tab. 11: Diagnostische Gütekriterien von OCT und CEM	45
Tab. 12: Zusammenfassung der diagnostischen Gütekriterien von OCT, CEM und der Kombination beider Methoden	45
Tab. 13: Ergebnisse der Verdachtsdiagnosen der Studienteilnehmer für die gesamte Läsion	46
Tab. 14: Ergebnisse der Verdachtsdiagnosen der Studienteilnehmer für die gewählten Areale	46
Tab. 15: Beschreibung der Gewebsstrukturen in den OCT-Aufnahmen nach Hamdoon et al. 2012.	60
Tab. 16: Vierfeldertafel zum Errechnen der diagnostischen Gütekriterien der OCT	89
Tab. 17: Vierfeldertafel zum Errechnen der diagnostischen Gütekriterien der CEM	89
Tab. 18: Vierfeldertafel zum Errechnen der diagnostischen Gütekriterien der Kombination von OCT und CEM.....	89
Tab. 19: Vierfeldertafel zum Errechnen der diagnostischen Gütekriterien der Einschätzung der gesamten Läsion durch die Tumorchirurgen.....	90
Tab. 20: Vierfeldertafel zum Errechnen der diagnostischen Gütekriterien der Einschätzung der gesamten Läsion durch die Assistenzärzte.....	90
Tab. 21: Vierfeldertafel zum Errechnen der diagnostischen Gütekriterien der Einschätzung der gesamten Läsion durch die Studenten.....	90

Tab. 22: Vierfeldertafel zum Errechnen der diagnostischen Gütekriterien der Einschätzung der gewählten Areale durch die Tumorchirurgen	90
Tab. 23: Vierfeldertafel zum Errechnen der diagnostischen Gütekriterien der Einschätzung der gewählten Areale durch die Assistenzärzte	91
Tab. 24: Vierfeldertafel zum Errechnen der diagnostischen Gütekriterien der Einschätzung der gewählten Areale durch die Studenten	91

Symbol- und Abkürzungsverzeichnis

%	Prozent
µm	Mikrometer
Abb.	Abbildung
bspw.	beispielsweise
CEM	Konfokale Endomikroskopie
CIS	Carcinoma in situ
DNA	Desoxyribonucleinsäure
ESS	elastische Streuungsspektroskopie
FD	Fluoreszenzdiagnostik
FD-OCT	frequenz domain-OCT
GII.	Glandulae
HD-OCT	high definition-OCT
HNSCC	head and neck squamous cell carcinoma - Plattenepithelkarzinome der Kopf-Hals-Region
HPV	Humaner Papillomavirus
HSI	Hyperspektrales Imaging
HS-OCT	high speed-OCT
iOCT	intraoperative OCT
M.	Musculus
NBI	Narrow Band Imaging
OCT	Optische Kohärenztomografie
OPSCC	Plattenepithelkarzinom des Oropharynx
RKI	Robert Koch Institut
SCC	squamous cell carcinoma - Plattenepithelkarzinom
SD-OCT	spectral domain-OCT
SERS	Surface Enhanced Raman Spektroskopie
SIL	Squamöse intraepitheliale Läsion
SIN	Squamöse intraepitheliale Neoplasie
SS-OCT	swept source-OCT
Tab.	Tabelle
TD-OCT	time domain-OCT
u.a.	unter anderem
v.a.	vor allem
WHO	World Health Organisation
z.B.	zum Beispiel
z.T.	zum Teil

1 Einleitung

2013 erkrankten allein in Deutschland 11.783 Menschen an Karzinomen des Mund- und Rachenraumes (RKI). Für einen großen Teil dieser Patienten endet ihre Erkrankung tödlich. Liegen die 5-Jahres-Überlebensraten der betroffenen Frauen noch bei 61%, sind es bei Männern nur 48% (Krebs in Deutschland 2011/12). Diese Überlebensraten hängen vor allem vom Erkrankungsstadium bei Erstdiagnose ab (Kademani et al. 2005). Über 20% der Männer werden erst im T4-Stadium diagnostiziert (Krebs in Deutschland 2011/12). Leider hat sich die hohe Diagnoseziffer im T4-Stadium in den letzten Jahrzehnten kaum verändert (Weijers et al. 2011). Zudem ist die Erkrankungshäufigkeit angestiegen (Bericht zum Krebsgeschehen 2016, RKI).

Das Plattenepithelkarzinom stellt mit 90% das weitaus häufigste dieser Karzinome dar (Vigneswaran et al. 2014). Die große Mehrzahl der Malignome bildet sich auf dem Boden langfristig bestehender und klinisch erkennbarer Präkanzerosen (Forastiere et al. 2001).

Das Wachstum dieser Präkanzerosen kann völlig schmerzlos ablaufen. Häufig bieten sie keine oder nur unspezifische Symptome, wie Prothesenlockerung, Schluckbeschwerden, Taubheitsgefühle, Blutungen oder Fremdkörpergefühle (S3-Leitlinie Mundhöhlenkarzinom 2012). Daher empfiehlt die Leitlinie „Diagnostik und Management von Vorläuferläsionen des oralen Plattenepithelkarzinoms in der Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde“, alle über 2 Wochen bestehenden unklaren Schleimhautveränderungen ohne Heilungstendenz abzuklären. Klinisch malignomsuspekte Befunde sollen demzufolge histopathologisch untersucht werden. Ist die Läsion klinisch nicht malignomsuspekt, genügt laut o.g. Leitlinie die Verlaufskontrolle. Der Erstuntersucher muss also auf Grundlage der Anamnese, des Tastbefundes und des makroskopischen Erscheinungsbildes entscheiden, ob eine Läsion kontrolliert werden kann oder ob diese invasiv biopsiert werden muss. Falls Restunsicherheiten des Diagnostikers vorliegen, gibt die Leitlinie die Bürstenbiopsie als Mittel der Wahl an, um dem Untersucher die Entscheidung zwischen Verlaufskontrolle und Biopsie zu erleichtern. Hierbei werden Zellen von mittleren und tieferen Zellschichten gewonnen und einer zytologischen Begutachtung zugeführt. Allerdings schwanken die Angaben zur Sensitivität der Bürstenbiopsie zwischen 71% und 91%, die der Spezifität sogar zwischen 32% und 91% (Poate et al. 2004), (Remerbach et al. 2004). Dem zytologischen Charakter der Bürstenbiopsie liegt inne, dass Gewebe nicht im Verband beurteilt werden kann. An dieser Stelle wird deutlich, dass eine diagnostische Lücke zwischen der makroskopischen Einschätzung einer Läsion und deren Beurteilung mittels Histologie vorliegt.

Die Empfehlungen der Leitlinie „Diagnostik und Management von Vorläuferläsionen des oralen Plattenepithelkarzinoms in der Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde“ sind also sowohl bei

klinisch eindeutig malignomsuspekten, als auch bei klinisch eindeutig nicht malignomsuspekten Befunden klar. Problematisch ist das Vorgehen, wenn beim Kliniker die in der Leitlinie beschriebene „Restunsicherheit“ vorliegt.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist daher, 2 Verfahren hinsichtlich ihrer Eignung zu untersuchen, dem Kliniker die Entscheidung, ob eine klinisch schwer einzuschätzende prä maligne Läsion der Mundhöhle zu biopsieren oder lediglich zu kontrollieren ist, zu erleichtern.

Bei den in der vorliegenden Arbeit begutachteten Verfahren handelt es sich um die Optische Kohärenztomografie (OCT) und die endoskopische konfokale Mikroskopie (CEM).

Beide Verfahren richten Laserlicht vertikal auf das zu begutachtende Gewebe. Sie generieren ohne Invasivität Bilder der Gewebs- und Zellmorphologie. Diese stehen dem Untersucher in Echtzeit zur Verfügung.

Die Anwendungsmöglichkeiten beider Verfahren wurden bereits in Studien der Hals-Nasen-Ohren-Klinik der Universitätsmedizin Rostock untersucht (Just und Stave et al. 2008), (Just et al. 2010), (Farahati et al. 2010), (Just und Pau et al. 2013), (Ilgner et al. 2016), (Stülpnagel et al. 2016).

Um die Frage zu klären, ob diese Verfahren dem Kliniker die Entscheidung zwischen Verlaufskontrollen und invasiver Biopsie bei klinisch schwer einzuschätzenden Läsionen der Mundhöhle erleichtern können, wurden erstmalig beide Verfahren in einer in-vivo-Untersuchung an Patienten mit entsprechenden Läsionen der Mundhöhle vergleichend überprüft. Es soll im Rahmen der Dissertation geklärt werden, ob die Methoden in der Frühdiagnostik des Mundhöhlenkarzinoms eingesetzt werden können.

1.1 Anatomie und Funktion der Mundhöhle

Die Mundhöhle bildet den Anfang des Verdauungsapparates und setzt sich aus verschiedenen Abschnitten zusammen (Waschke et al. 2015): Der Mundvorhof (Vestibulum oris) bildet den Eingang in die Mundhöhle und wird vorn durch die Lippen begrenzt. Die Lippen dienen der Nahrungsaufnahme und der Phonation, aber auch dem Übermitteln von Emotionen und der sexuellen Erregung. Die Wangen bilden die laterale Begrenzung der Mundhöhle. Deren muskuläre Grundlage, der Musculus buccinator, zieht die Wange während des Kauens zusammen, stimuliert mechanisch die Ohrspeicheldrüse und ist entscheidend für Saugbewegungen. Das Dach setzt sich aus hartem und weichem Gaumen zusammen. Während der harte Gaumen wichtig für die Lautbildung von Konsonanten ist und der Zunge als Widerlager beim Zerquetschen der Nahrung dient, trennt der weiche Gaumen Naso- und Oropharynx beim Schluckakt (Waschke et al. 2015). Die vorderen 2/3 der Zunge gehören ebenfalls zur

Mundhöhle. Die Funktionen der Zunge sind vielfältig und betreffen nicht alleine den Geschmackssinn, sondern auch den Transport und die mechanische Zerkleinerung der Nahrung, den Tastsinn und die Phonation. Darunter befindet sich der Mundboden, der aus mylohyoider, digastrischer und geniohyoider Muskulatur gebildet wird und der Zunge als Widerlager dient (Vogel et al. 2010). Außerdem beinhaltet die Mundhöhle die Gingiva sowie die oberen und unteren Alveolar- und Zahnreihen. Diese dienen dem Zerkleinern der Nahrung. Des Weiteren münden in die Mundhöhle die Ausführungsgänge der Speicheldrüsen. Nach dorsal öffnet sich die Mundhöhle in den Oropharynx. Mundhöhle und Oropharynx lassen sich durch eine imaginäre Linie trennen, die durch die Wallpapillen, die vorderen Tonsillenpfeiler und die Grenze zwischen hartem und weichem Gaumen gezogen wird (Kirsch 2007).

Abb. 1 zeigt eine Übersicht der Mundhöhle.

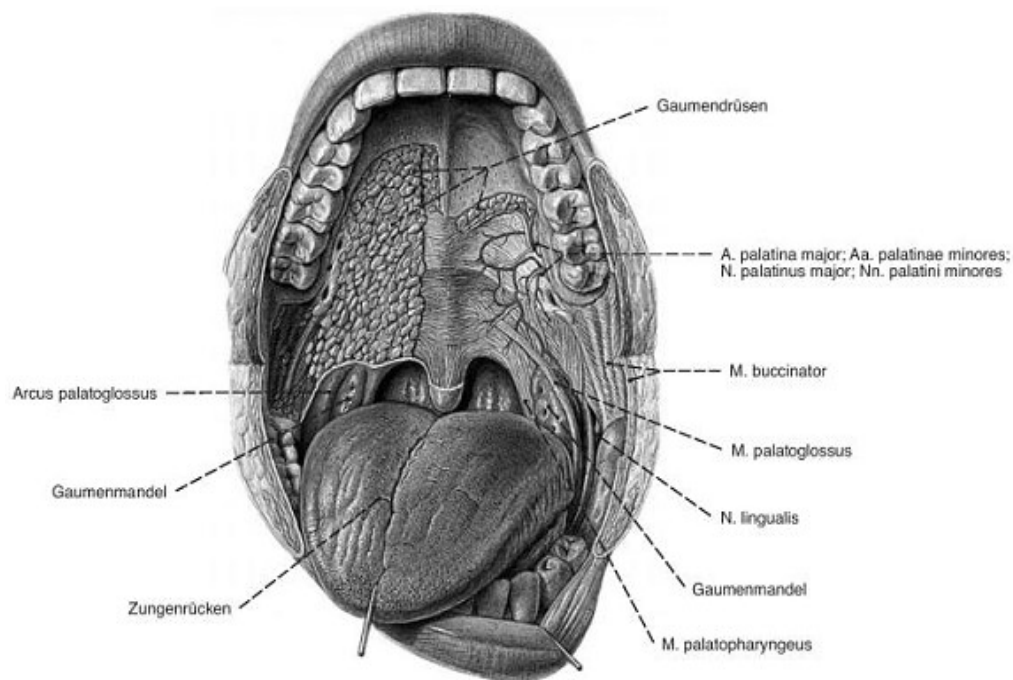


Abb. 1: Einblick in die Mundhöhle mit teilweise eröffneter Gaumenschleimhaut. Sobotta, 20. Auflage, S. 103, Abb. 185

Die Schleimhaut der Mundhöhle besteht aus mehrschichtigem Plattenepithel und darunter liegender bindegewebiger Lamina propria (Lüllmann-Rauch 2015). Je nach Lokalisation weist sie Besonderheiten auf: Die Lippe trägt auf ihrer Innenseite unverhorntes Plattenepithel und die Lamina propria enthält die Glandulae labiales. Außen ist die Schleimhaut verhornt und enthält hohe Bindegewebspapillen (Welsch et al. 2014). In der Tiefe befindet sich die quergestreifte Muskulatur des M. orbicularis oris (Baumhoer et al. 2003). Die Schleimhaut der Wange trägt unverhorntes mehrschichtiges Plattenepithel. Die Lamina propria ist von

Drüsen durchsetzt und fest mit der quergestreiften Muskulatur des M. buccinator verbunden (Baumhoer et al. 2003). Auch der weiche Gaumen ist von dem unverhornten mehrschichtigen Plattenepithel überzogen. Dieses enthält viele Gll. palatinae. Das Epithel des harten Gaumens hingegen kann bei chronischer Beanspruchung verhornt sein. Es ist von dichtem Bindegewebe unterlegt und fest mit dem Periost verwachsen (Welsch et al. 2014). Typisch für die Histologie der Zunge sind deren Papillen. Die Geschmackspapillen, zu denen die Papillae fungiformes, foliatae und vallatae gehören, stellen sich als millimetergroße, zwiebelartige Gebilde auf der Zungenoberfläche dar. Die Papillae filiformis sind schlanke Epithelzapfen, die an der Oberfläche verhornt sind und nicht den Geschmackssinn vermitteln. Des Weiteren enthält die Zunge Im Inneren besteht die Zunge aus typisch transversal, longitudinal und vertikal angeordneten quergestreiften Muskelbündeln (Welsch et al. 2014).

Funktionell lässt sich die beim Kauen mechanisch beanspruchte mastikatorische Schleimhaut (Gingiva, harter Gaumen) von der auskleidenden Schleimhaut (Wangen, Vestibulum, Mundboden) und der spezialisierten Schleimhaut (Zungenrücken) unterscheiden (Lüllmann-Rauch 2015).

Obwohl Mundhöhle und Oropharynx einen nicht getrennten Raum mit ununterbrochenem Plattenepithel darstellen, hat die Unterscheidung klinische Relevanz (Kirsch 2007). Dies begründet sich vor allem im Vorhandensein von tonsillarem Gewebe im Oropharynx und dessen Fehlen in der Mundhöhle (Westra et al. 2017). Im Kapitel 1.2.1. wird diese Thematik näher erläutert.

1.2 Das Mundhöhlenkarzinom

1.2.1 Neue Edition der WHO-Klassifikation der Kopf-Hals-Tumore

Bei über 90% der Karzinome der Mundhöhle und des Rachens handelt es sich um Plattenepithelkarzinome, die aus der Schleimhaut hervorgehen (Vigneswaran et al. 2014). Es sei angemerkt, dass die oben erwähnte klinische Relevanz der Trennung von Mundhöhle und Oropharynx 2017 Einzug in die neue Edition der WHO-Klassifikation der Kopf-Hals-Tumore erhielt. Westra et al. 2017 befassten sich intensiv mit dieser Erneuerung, so dass sich der folgende Abschnitt auf deren Arbeit bezieht. Die WHO-Klassifikation der Kopf-Hals-Tumore von 2005 enthielt noch ein gesamtes Kapitel für alle Plattenepithelkarzinome des Kopf-Hals-Bereiches, abgekürzt HNSCC (squamous cell carcinoma of the head and neck). Allerdings war ein alarmierender Anstieg der HPV (humaner Papillomavirus) positiven Karzinome zu verzeichnen. Diese treten aber vor allem im Oropharynx auf (OPSCC - oropharyngeal squamous cell carcinoma). Das hoch spezialisierte Lymphepithel, das die Krypten der Tonsillen auskleidet, bietet eine tolerantere Umgebung für HPV Infektionen und HPV getriebene

Tumorgenese (Westra 2009). Daraus resultieren wesentlich höhere Raten von HPV im SCC (squamous cell carcinoma) des Oropharynx (OPSCC) als im SCC der Mundhöhle. Die WHO hat daher die Karzinome des Oropharynx als eigene Entität anerkannt und die OPSCC's auf der Basis des HPV Status von den übrigen HNSCC's separiert.

Da die WHO diese Version erst 2017 veröffentlichte, beziehen sich viele Quellen, vor allem aus dem epidemiologischen Bereich, noch auf HNSCC's im Allgemeinen.

Diese Dissertation konzentriert sich auf das Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle und dessen Vorläuferläsionen.

1.2.2 Epidemiologie und Risikofaktoren

Krebserkrankungen sind für ein Viertel aller Todesfälle in Deutschland verantwortlich (Statistisches Bundesamt 2017). Karzinome der Mundhöhle und des Rachens stellen, die Männer betreffend, 3-4% davon dar. Somit sind sie die siebthäufigste Krebsart. Bei Frauen liegt der Anteil bei etwa der Hälfte (Krebs in Deutschland 2011/12). 2013 erkrankten in Deutschland 11.783 Menschen an Karzinomen des Mund- und Rachenraumes, wobei die häufigsten Diagnosen im Alter von 60-64 Jahren gestellt wurden (RKI) (Abb. 2). Zudem ist die Inzidenz steigend (Krebs in Deutschland 2011/12).

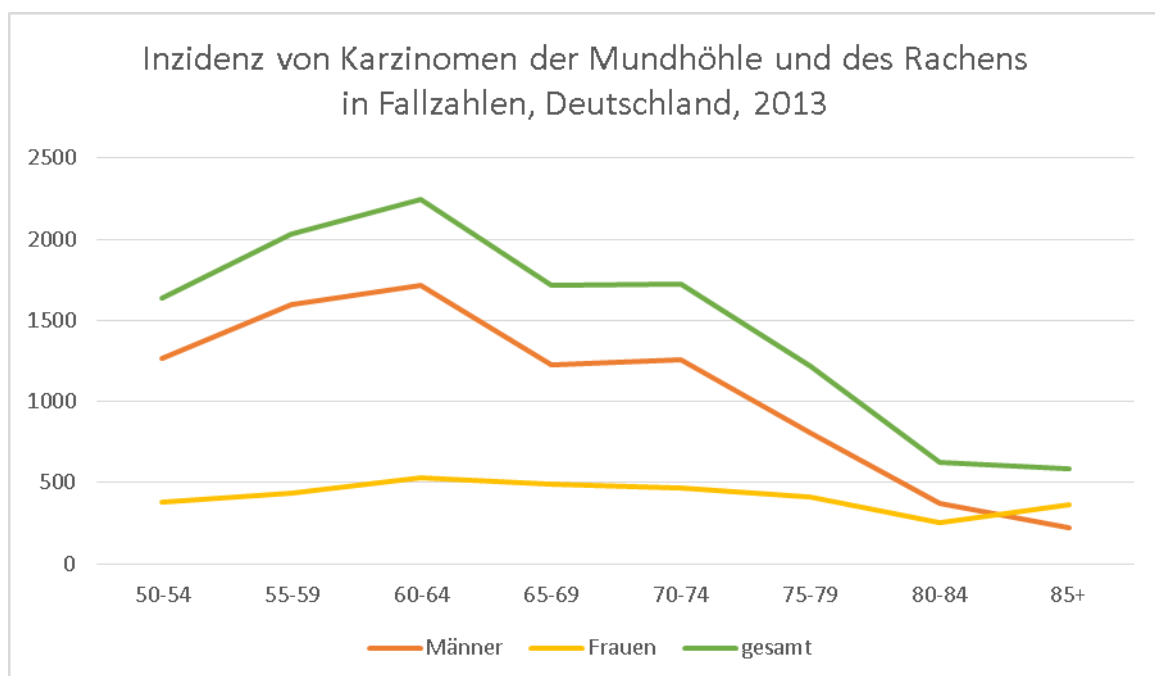


Abb. 2: Inzidenz der Karzinome von Mundhöhle und Rachen im Jahr 2013, Fallzahlen in Deutschland.
Zentrum für Krebsregisterdaten des Robert Koch Instituts, Datenbankabfrage

Im selben Jahr starben in Deutschland 5169 Patienten an ihrer Krebserkrankung. Die Mortalität zeigt 2 Häufigkeitsgipfel, einen zwischen dem 60.-64. Lebensjahr und einen zweiten zwischen dem 70.-74. Lebensjahr (RKI) (Abb. 3). Aber Studien deuten auch darauf hin, dass 4-6% der HNSCC's mittlerweile in einem Alter von unter 40 Jahren auftreten (Llewellyn et al. 2001).

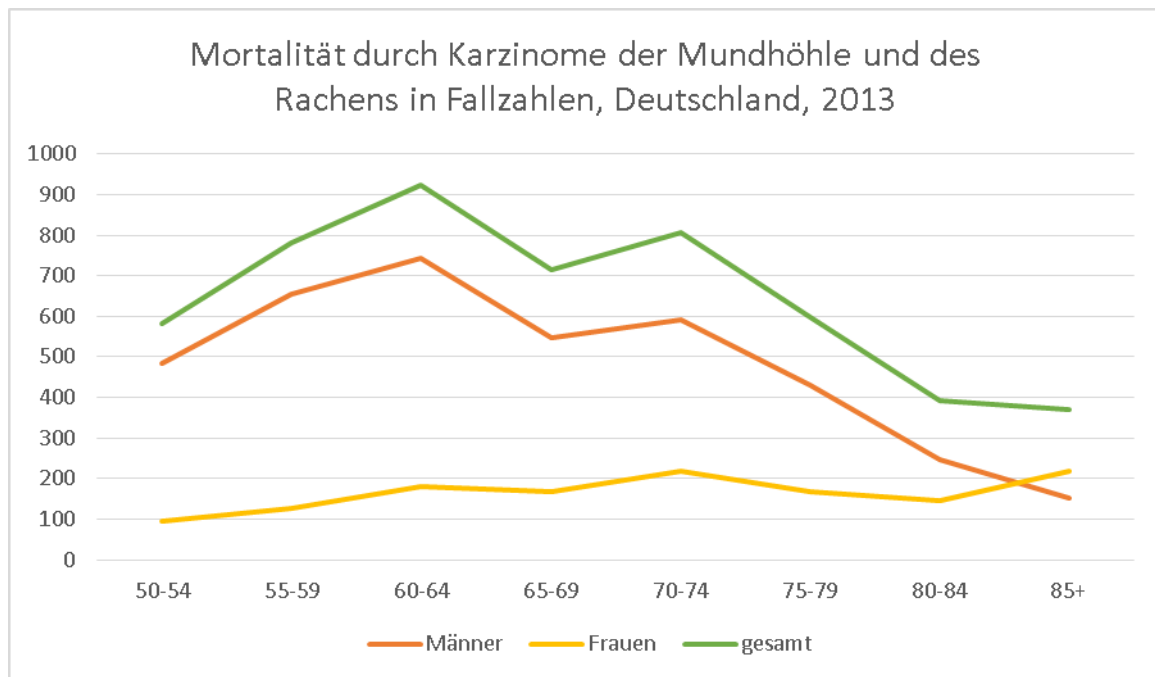


Abb. 3: Mortalität verursacht durch Karzinome von Mundhöhle und Rachen im Jahr 2013, Fallzahlen in Deutschland. Zentrum für Krebsregisterdaten des Robert Koch Instituts, Datenbankabfrage

Die Erkrankungshäufigkeit und die Sterblichkeit an Kopf-Hals-Tumoren sind in Deutschland bei den Frauen auch nach Altersstandardisierung langfristig angestiegen. Bei den Männern sind die Raten dagegen auf deutlich höherem Niveau stabil, beziehungsweise rückläufig (Bericht zum Krebsgeschehen 2016, RKI).

Frauen weisen mit 61% im Vergleich zu Männern mit 48% die günstigeren 5-Jahres-Überlebensraten auf. Im Bezug dazu wird jeder dritte Tumor bei Frauen im frühen Stadium (T1) diagnostiziert, aber nur jede vierte Erkrankung bei Männern. Bei Letzteren werden über 20% erst im Stadium T4 entdeckt (Abb. 4) (Krebs in Deutschland 2011/12).

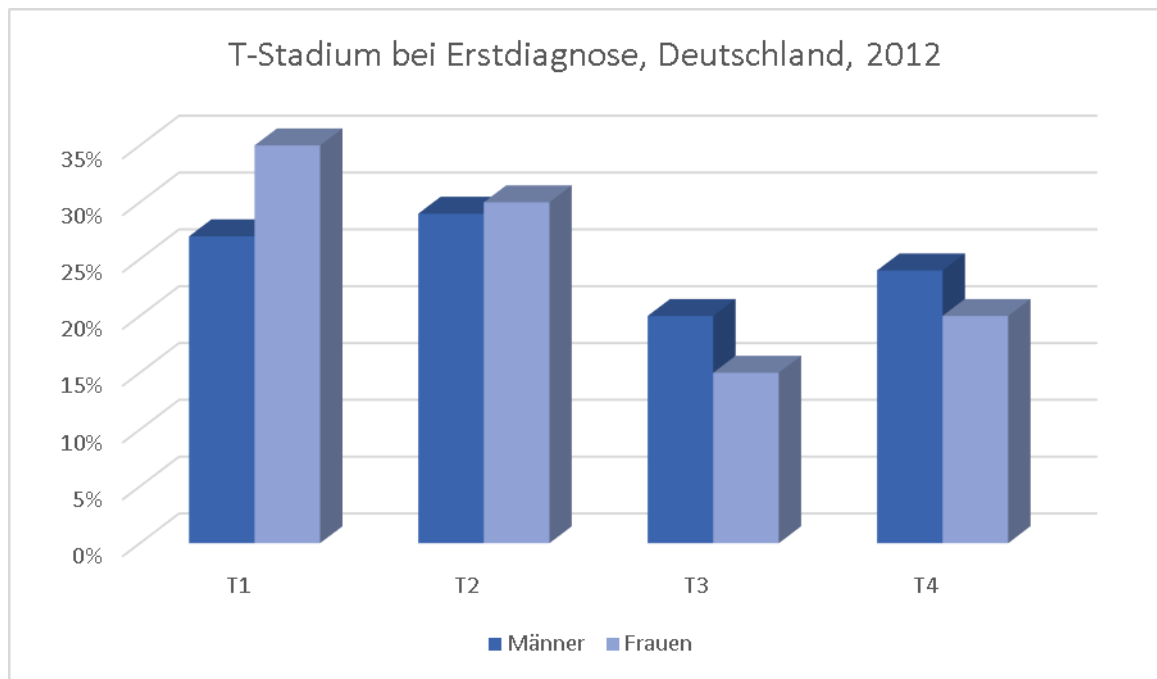


Abb. 4: T-Stadium bei Erstdiagnose von Karzinomen der Mundhöhle und des Rachens. Krebs in Deutschland, Mundhöhle und Rachen, Epidemiologische Krebsregistrierung des Robert-Koch-Instituts

Auch bestehen deutliche regionale Unterschiede: Bei unter 60-Jährigen ist die Sterblichkeit an diesen Tumoren in den neuen Bundesländern seit Ende der 1990er Jahre erheblich gestiegen, was zu einem deutlichen Ost-West-Gefälle geführt hat. Wahrscheinlich liegt dies in der regional unterschiedlichen Entwicklung von Tabak- und Alkoholkonsum (vor allem in Kombination) begründet (Bericht zum Krebsgeschehen 2016, RKI). Beispielsweise liegen die Sterberaten in Mecklenburg-Vorpommern etwa doppelt so hoch wie in Schleswig-Holstein oder im Süden Deutschlands (Krebs in Deutschland 2011/12).

Doch Karzinome von Mundhöhle und Rachen spielen nicht nur in Deutschland, sondern weltweit eine Rolle. Beispielsweise werden in den USA 2017 fast 50.000 Erstdiagnosen und 10.000 Todesfälle erwartet (Siegel et al. 2017).

Die Hauptrisikofaktoren des Mundhöhlenkarzinoms sind der Alkohol- und der Tabakkonsum (Pare et al. 2017). Hinzu kommt, dass die Einnahme beider Substanzen synergistische Effekte hat und somit das Risiko, an einem Karzinom der Mundhöhle zu erkranken, deutlich ansteigt (Yakin et al. 2017). Des Weiteren erhöht das Kauen von Betelnüssen das orale Krebsrisiko, was aber im südostasiatischen Raum einer größeren Bedeutung zukommt als in Deutschland (Kao et al. 2015). Während 1997 noch kontrovers diskutiert wurde, ob dem Humanen Papillomavirus (HPV) eine Bedeutung in der Entstehung von oralem Krebs zukommt (La Vecchia et al. 1997), ist mittlerweile bekannt, dass dieser vor allem in der Entstehung von Oropharynxkarzinomen eine große Rolle spielt (Westra 2009). Auch die Ernährung

hat Einfluss auf die Krebsentstehung der Mundhöhle und des Rachens. So konnten Bosetti et al. belegen, dass eine Ernährung, die verschiedene Aspekte der mediterranen Diät beinhaltet, das Krebsrisiko des oberen Aerodigestivtrakts sinken lässt. In einer Fall-Kontroll-Studie aus Warschau (Lissowska et al. 2003) wirkten sich besonders Zitrusfrüchte positiv auf die Reduzierung des oralen Krebsrisikos aus. Die Autoren nahmen außerdem eine schlechte Mundhygiene und spezielle sexuelle Praktiken (Oralverkehr, Kontakte zu Prostituierten) als Risikofaktor an. Dieser Zusammenhang konnte aber nicht bewiesen werden. Andere Risikofaktoren sind Immundefizienzen und ein geringer sozioökonomischer Status (Kebabcioglu et al. 2017). Dem Lebensstil kommt somit eine besonders große Bedeutung in der Prävention von Krebserkrankungen der Mundhöhle und des Rachens zu (Reichart 2000). Pare et al. bewerteten auch das Vorhandensein von Vorläuferläsionen als Hauptrisikofaktor. Diese werden im folgenden Kapitel näher beleuchtet.

1.3 Vorläuferläsionen des Mundhöhlenkarzinoms

Grundsätzlich können maligne Entartungen auch in der klinisch gesund erscheinenden Mundschleimhaut entstehen, allerdings bildet sich die große Mehrzahl auf dem Boden langfristig bestehender und klinisch erkennbarer Präkanzerosen (Forastiere et al. 2001). Diese stellen eine chronische Erkrankung der Schleimhaut dar (Pare et al. 2017). Zu den Vorläuferläsionen des oralen Plattenepithelkarzinoms gehören die Leukoplakie und die Erythroplakie (Ahn et al. 2011).

Die Leukoplakie ist eine „weiße Läsion der Mundschleimhaut, die nicht einer anderen, genau bestimmbar Läsion zugeordnet werden kann“ (S3 Leitlinie Mundhöhlenkarzinom). Sie ist damit eine Ausschlussdiagnose. Sie kann als eine homogen weißliche Hyperkeratose mit relativ geringem Entartungsrisiko auftreten (Klöppel et al. 2009). Doch es gibt auch inhomogene Formen: die Erythroleukoplakie mit roten Anteilen, die noduläre Leukoplakie und die verruköse Leukoplakie. Treten simultan multiple Leukoplakien auf, spricht man von der proliferativen verrukösen Leukoplakie (PVL). Die inhomogenen Formen haben ein wesentlich höheres Entartungsrisiko, die PVL das höchste unter den Leukoplakien (Warnakulasuriya et al. 2007). Liegt ein roter, relativ scharf begrenzter Fleck der Mundschleimhaut vor, der ebenfalls keiner anderen genau bestimmbar Läsion zugeordnet werden kann, handelt es sich um eine Erythroplakie (Klöppel et al. 2009). Beides sind somit klinische Definitionen. Sie sollten nicht als histopathologische Diagnosen verwendet werden, da es nur sehr wenige Berichte gibt, in denen die klinische Diagnose mit den Ergebnissen der histopathologischen Untersuchung verglichen wurde (Reichart 2005). Aus demselben Grund finden sich in der Literatur bezüglich des Entartungsrisikos der Vorläuferläsionen stark schwankende Angaben.

Diese liegen zwischen 5-20% (Speight et al. 2007), (Mehanna et al. 2009), (Pare et al. 2017). Die Erythroplakie entartet im Durchschnitt häufiger (Klöppel et al. 2009).

1.3.1 Diagnostik von Vorläuferläsionen des Mundhöhlenkarzinoms

Das Wachstum von Vorläuferläsionen des Mundhöhlenkarzinoms kann völlig schmerzlos ablaufen. Häufig finden sich keine oder nur unspezifische Symptome, wie Prothesenlockerung, Schluckbeschwerden, Taubheitsgefühle, Blutungen oder Fremdkörpergefühl (S3 Leitlinie Mundhöhlenkarzinom 2012). Daher empfiehlt die aktuelle Leitlinie „Diagnostik und Management von Vorläuferläsionen des oralen Plattenepithelkarzinoms in der Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde“ alle, über 2 Wochen bestehenden, unklaren Schleimhautveränderungen ohne Heilungstendenz abzuklären. Bei klinisch malignomsuspekten Befunden sollte laut o.g. Leitlinie die Inzision mittels Skalpell und eine anschließende histopathologische Begutachtung erfolgen.

Ist die Läsion nicht malignomsuspekt, besteht aber dennoch eine Restunsicherheit beim Kliniker, so steht als weniger invasive Methode die Bürstenbiopsie zur Verfügung. Bei Letzterer wird Zell- und Gewebematerial der Schleimhaut mit Hilfe einer geeigneten Bürste entnommen und optimalerweise alle Epithelschichten bis zur Basalzellschicht erfasst (Burkhardt 2006). Allerdings schwanken die Angaben zur Sensitivität der Bürstenbiopsie zwischen 71% und 91%, die der Spezifität sogar zwischen 32% und 91% (Poate et al. 2004), (Remmerbach et al. 2004). Sie eignet sich somit nicht zum sicheren Ausschluss einer malignen Läsion, sondern allenfalls zum Vermeiden von Fehleinschätzungen bei klinisch benignen Läsionen (Driemel et al. 2008).

Ist die histologische Untersuchung erfolgt, hängt das weitere Vorgehen vom Grad der gegebenenfalls vorhandenen Dysplasie ab. Eine Dysplasie ist eine Störung der Epithelarchitektur mit zellulären Atypien (Warnakulasuriya et al. 2008). Liegen lediglich eine Hyperkeratose, eine erhöhte Zellzahl und somit eine Verdickung des Epithels vor, handelt es sich nur um eine Hyperplasie (Speight et al. 2007). Die WHO teilt die Dysplasien in 3 Schweregrade ein, die von Speight et al. herausgearbeitet wurden:

Die milde Dysplasie (Dysplasie Grad 1) betrifft das untere Epitheldrittel, also die Basal- und Parabasalschicht. Es liegen milde Kernpleomorphismen und nur minimale Veränderungen der Gewebsarchitektur vor. Eine moderate Dysplasie (Dysplasie Grad 2) liegt vor, wenn die Veränderungen bis ins mittlere Epitheldrittel reichen. Prominente Kernpleomorphismen und hyperchrome Zellen sind sichtbar. Vermehrte Mitosen liegen vor, beschränken sich aber auf die Basalzellschicht. Die untere Hälfte des Epithels ist von architektonischen Veränderungen betroffen. Dazu gehören beispielsweise der basale Polaritätsverlust und starke Hyperplasien, die zwiebelartige Bindegewebspapillen entstehen lassen. Häufig werden auch Hyperkerato-

sen gesehen. Bei der starken Dysplasie (Dysplasie Grad 3) reichen die oben genannten abnormen Veränderungen bis ins obere Epitheldrittel. Zusätzlich existieren teils tripolare suprabasale Mitosen und Apoptosekörper. Die gewöhnliche Zellschichtung kann komplett aufgehoben sein. Häufig sind tiefe Keratinisierungen und prominente zwiebelartige Bindegewebspapillen zu sehen. Das Epithel ist typischerweise verdickt, doch im Falle von Erythroplakien geht die starke Dysplasie häufig mit einer Gewebsatrophie einher. Reichen die Epithelaty-pien über die gesamte Epitheldicke und heben somit die normale Schichtung komplett auf, spricht man von einem Carcinoma in situ (CIS) (Warnakulasuriya et al. 2008). Durchbricht diese Veränderung die Basalmembran und dringt in tiefere Schichten ein, liegt eine Invasion vor. Diese ist wiederum das Kriterium für die Unterscheidung von CIS und mikroinvasivem/invasivem Karzinom (Warnakulasuriya et al. 2008). In der Tabelle 1 sind die histologi-schen Diagnosekriterien der einzelnen Grade der Veränderung zusammengefasst.

Tab. 1: Zytologische und architektonische Eigenschaften der oralen epithelialen Dysplasie Speight et al. 2007

Dysplasiegrad nach WHO	betroffene epitheliale Ebenen	Zytologische Veränderungen	Architektonische Veränderungen
Hyperplasie	oberflächlich	keine	verdicktes Epithel, Hyperkeratose, normale Reifung
Milde Dysplasie	unteres Drittel	Zell- und Kernpleomorphismen, Kernhyperchromatosen	Basalzellhyperplasie
Moderate Dysplasie	bis zum mittleren Drittel reichend	Zell- und Kernpleomorphismen, Kernhyperchromatosen, Anisozytosen, erhöhte und abnormale Mitosen	Polaritätsverlust, ungeordnete Zellreifung durch alle Schichten, erhöhte Zelldichte, Basalzellhyperplasie, epitheliale Einziehungen
Starke Dysplasie	bis ins obere Drittel reichend	Zell- und Kernpleomorphismen, Kernhyperchromatosen, Anisozytosen, erhöhte und abnormale Mitosen, erhöhte Anzahl und Größe der Nukleoli, Apoptosekörper	ungeordnete Zellreifung durch alle Schichten, erhöhte Zelldichte, Basalzellhyperplasie, epitheliale Einziehungen, Dyskeratose, Akantholysen, sekundär erweiterte Epitheleinziehungen
Carcinoma in situ	komplette Epitheldicke	alle Veränderungen möglich	kompletter Verlust der Schichtung

Neben der Einteilung der Dysplasiegrade durch die WHO existieren komplementär andere Klassifikationssysteme: Die Ljubljana Klassifikation (Hellquist et al. 1999) hat sich in erster Linie für den Larynx klinisch bewährt. Sie kann aber auch bei oropharyngealen Läsionen therapeutisch wichtige Informationen für den Kliniker liefern (Mahayana et al. 2004). Zudem findet die Einteilung in squamöse intraepitheliale Neoplasien Grad I-III (SIN I-III) statt. SIN I und II entsprechen in ihren Kriterien der leichten, bzw. moderaten Dysplasie. Die SIN III umfasst die schwere Dysplasie und das Carcinoma in situ. Von einigen Autoren wird ein binäres System (low-grade und high-grade SIN) befürwortet, um dem Kliniker die Therapieentscheidung im Falle einer moderaten Dysplasie zu erleichtern (Kujan et al. 2006). Bei einer low-grade SIN liegen weniger als 4 architektonische und weniger als 5 zytologische Veränderungen vor. Sind mehr Veränderungen zu sehen, so gilt die Probe als high-grade SIN. Eine Zusammenfassung der Klassifikationssysteme ist in Tabelle 2 gegeben.

Tab. 2: Zusammenfassung der Klassifikationssysteme der oralen Dysplasien
Modifiziert nach Gale et al. 2005

WHO Klassifikation der Epitheldysplasien	Ljubljana Klassifikation squamöse intraepitheliale Läsionen (SIL)	Squamöse intraepitheliale Neoplasie (SIN)
Hyperplasie	Einfache Hyperplasie	/
Leichte Dysplasie I	Basale und parabasale Hyperplasie	SIN I Low grade SIN
Moderate Dysplasie II	Atypische Dysplasie	SIN II
Schwere Dysplasie III	(Risikoepithel)	High grade SIN
Carcinoma in situ	Carcinoma in situ	SIN III
Invasives Karzinom	Invasives Karzinom	Invasives Karzinom

Entsprechend des binären Einteilungssystems empfiehlt die Leitlinie „Diagnostik und Management von Vorläuferläsionen des oralen Plattenepithelkarzinoms in der Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde“, eine SIN I zu beobachten und SIN II-III zu exzidieren.

Die Entscheidung, ob eine Läsion kontrolliert oder biopsiert werden muss, sollte durch eine diagnostische noninvasive Methode erleichtert werden. Zu diesem Zweck stehen verschiedene bildgebende Verfahren in der Prüfung, welche im Folgenden kurz vorgestellt werden:

In der bildgebenden Diagnostik von Vorläuferläsionen des oralen Plattenepithelkarzinoms werden je nach generierter Abbildung vertikale von horizontalen Verfahren unterschieden.

Die Leitlinie „Diagnostik und Management von Vorläuferläsionen des oralen Plattenepithelkarzinoms in der Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde“ beinhaltet 2 der horizontalen Verfahren:

Zum einen wird die Intravitalfärbung mit Toluidinblau beschrieben. Hierbei handelt es sich um einen DNA affinen Farbstoff, welcher in Geweben mit erhöhtem Zellumsatz vermehrt bindet. Jedoch stellten Patton et al. 2008 in einem Review zu diesem Thema fest, dass die Sensitivität in der Ermittlung von Malignität zwischen 38% und 98% und die Spezifität zwischen 9% und 93% schwankt. Laut Leitlinie ist nach langjähriger Existenz dieser Methode keine Entwicklung und Verbreitung der Toluidinblaufärbung mehr zu erwarten.

Zum anderen erwähnt die o.g. Leitlinie kurz die Autofluoreszenzdiagnostik. Allerdings ist in der aktuellen Version die Bewertung der diagnostischen Qualität aufgrund der Datenlage (Stand 2010) noch nicht möglich. Kriterien für maligne Veränderungen sind hierbei vor allem ein Verlust der Autofluoreszenz und Gefäßatypien (Pogorzelski et al. 2012). So können neoplastische Veränderungen besser erkannt und Resektionsränder beurteilt werden (Paczona et al. 2003).

Der Großteil der neueren bildgebenden Diagnostik erhielt noch keinen Einzug in die Leitlinie:

Das Narrow Band Imaging (NBI) gehört zu den horizontalen Verfahren. Es nutzt schmalbandiges Licht, um Gefäße und oberflächliche Veränderungen im Bereich des Epithels zu kontrastieren und somit sichtbar zu machen. Da Pathologien mit speziellen Veränderungen der Gefäße einhergehen, unterstützt das NBI die Diagnose von Läsionen im oberen Aerodigestivtrakt (Arens et al. 2016).

Mit Hilfe der elastischen Streuungsspektroskopie (ESS) können Veränderungen in der Morphologie, ein erhöhter Metabolismus der Zellorganellen, Hyperchromizität und abnormale Proteinpakete sichtbar gemacht werden. Somit beinhaltet sie das Potenzial, Dysplasien zu erkennen (Sharwarni et al. 2006).

Ein sehr neues Verfahren ist das Hyperspektrale Imaging (HSI). Hier werden Bilder endoskopisch erstellt und die Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen von malignen Veränderungen errechnet. Ein Vorteil ist, dass die Auswertung automatisch abläuft und somit nicht untersucherabhängig ist (Laffers et al. 2016).

ESS und HSI lassen sich nicht eindeutig den horizontalen oder vertikalen Verfahren zuordnen.

Zudem wurden bereits einige Geräte in Kombination miteinander beurteilt. Beispielsweise verwendeten Volgger et al. 2017 die Methode des NBI und die des High Speed Imaging, um Läsionen der Glottis zu beurteilen. Letztere misst die Vibrationsfrequenz der Stimmlippen und ist somit in der Lage, Verwachsungen zu erkennen. Auch diese Kombination erbrachte vielversprechende Ergebnisse, allerdings hat das High Speed Imaging für die Mundhöhle keine Bedeutung.

Umfassendere Überblicke sind in der Literatur vorhanden (Jerjes et al. 2011, Green et al. 2014).

In dieser Arbeit sollen 2 weitere Verfahren, die Optische Kohärenztomografie und die starre konfokale Endomikroskopie untersucht werden. Es stellt sich die Frage, ob diese dem Kliniker die Entscheidung, eine Läsion zu biopsieren oder lediglich zu kontrollieren, verlässlich erleichtern und somit in der Frühdiagnostik des Mundhöhlenkarzinoms eingesetzt werden können.

1.4 Die Optische Kohärenztomografie (OCT)

Die optische Kohärenztomografie beruht auf dem Prinzip des Michelson Interferometers. Dieses entwickelte der Physiker Albert Abraham Michelson bereits im 19. Jahrhundert und nutzte dabei das Phänomen der Interferenz von Wellen. Unter Interferenz versteht man die Überlagerung zweier oder mehrerer Wellen (Harms 2004). Das Licht muss hierfür kohärent sein, das heißt es liegt Phasen- und Frequenzgleichheit vor. Laserlicht erfüllt diese Eigenschaften (Abb. 5).

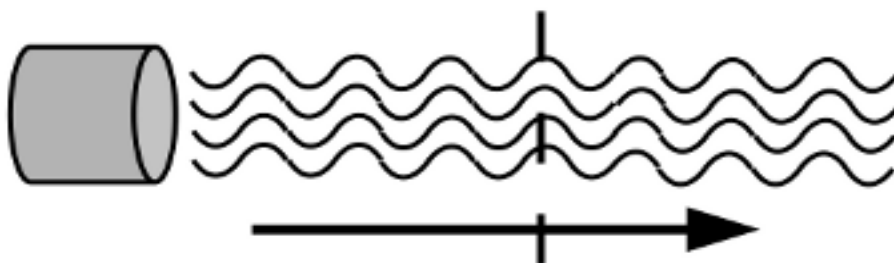


Abb. 5: Schematische Darstellung des Laserlichts. Der Laser sendet frequenzgleiche und zueinander parallele Lichtwellen aus. Das Licht ist kohärent.

<http://physik.wissenstexte.de/kohaerent.png>

Das einfallende Licht wird durch einen Strahlenteiler in einen Probenstrahl und einen Referenzstrahl geteilt. Beide Strahlen werden durch Spiegel reflektiert und durch denselben Strahlenteiler wieder vereint. So tritt das einfallende Licht mit sich selber in Interferenz. Treten Phasenverschiebungen des Probenstrahls auf, können diese mit Hilfe der Interferenz mit dem Referenzstrahl gemessen werden (Kang et al. 2013). Das Prinzip der Interferometrie ist in Abb. 6 dargestellt.

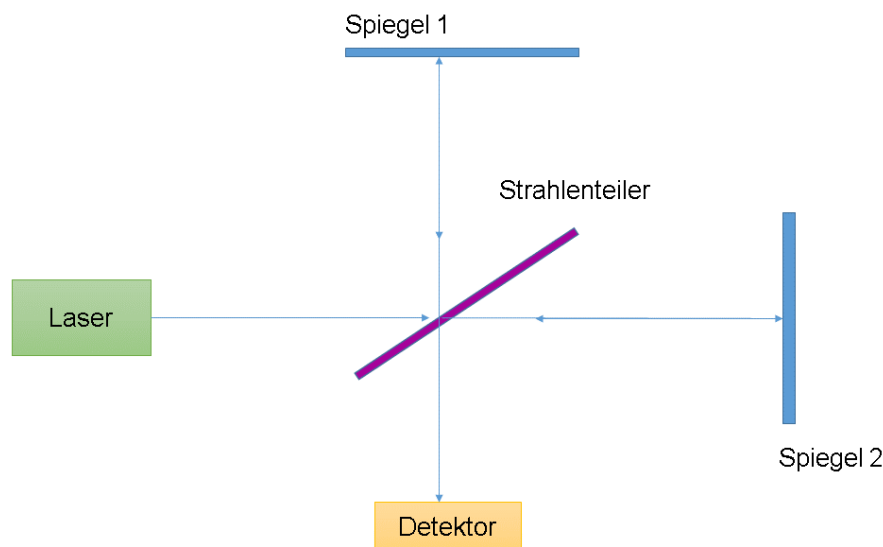


Abb. 6: Prinzip der Interferometrie.
Das kohärente Laserlicht wird durch den Strahlenteiler in 2 Strahlen aufgeteilt, welche jeweils auf einen Spiegel treffen und von diesem reflektiert werden. Im selben Strahlenteiler werden die Strahlen wieder vereint, sie treten dort in Interferenz und der Detektor kann die Phasenverschiebungen aufzeichnen.

Durch den technischen Fortschritt konnte in den späten 80er Jahren die niedrig kohärente Reflektometrie diskutiert werden (Gilgen 1989). Diese basierte auf demselben oben erläuterten Prinzip und erstellte bereits Interferogramme mit einer Genauigkeit im Mikrometerbereich (Gilgen 1989). Huang et al. erweiterten 1991 die niedrig kohärente Reflektometrie zu einer vertikalen Bildgebung, die noninvasiv Querschnitte von biologischen Systemen erstellt, genannt Optische Kohärenztomografie.

Man unterscheidet die time domain-OCT (TD-OCT) und die frequency domain-OCT (FD-OCT). Bei Ersterer wird die Eindringtiefe durch eine Veränderung der Länge des Referenzarms variiert. Die FD-OCT erfasst die Interferenz der einzelnen spektralen Komponenten (Liu et al. 2007). Hierzu gehören die swept source OCT (SS-OCT) und die spectral domain

OCT (SD-OCT). Die SS-OCT nimmt die einzelnen spektralen Komponenten zeitlich nacheinander auf. Bei der in dieser Arbeit verwendeten SD-OCT geschieht dies durch Messung des Spektrums der interferierenden Strahlung am Interferometerausgang mit Hilfe eines Spektrometers (Zhang et al. 2013). Je nach Refraktionsindices der einzelnen Gewebeschichten – bzw. strukturen wird der Probenstrahl zurückgeworfen und so eine eindimensionale Tiefenprobe erstellt (A-Scan). Dieser Vorgang ist in Abb. 7 schematisch dargestellt. Durch Bewegung des Lasers entlang einer Linie der Gewebeprobe wird ein zweidimensionaler B-Scan und, durch Bewegung des Lasers entlang einer ganzen Region, ein dreidimensionaler C-Scan generiert (Zhang et al. 2013).

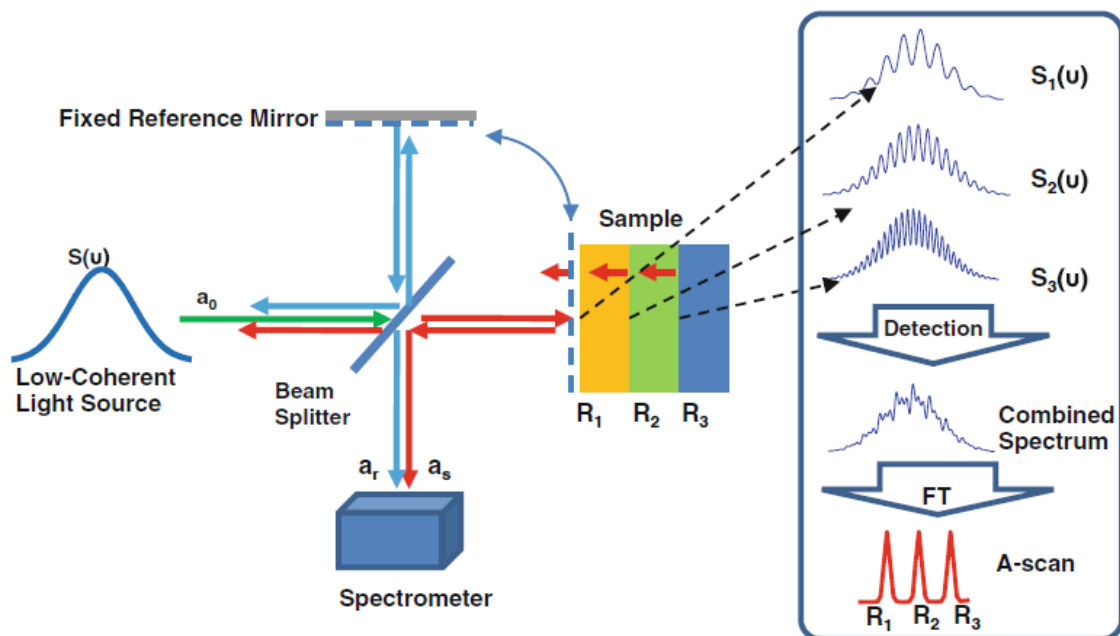


Abb. 7: Schematische Darstellung der Generierung eines A-Scans durch die SD-OCT. Das Laserlicht (low-coherent light source) trifft auf den Strahlenteiler (Beam Splitter) und teilt sich in einen Probenstrahl (rot) und einen Referenzstrahl (blau) auf. Je nach Schicht der Gewebeprobe (R1-R3) wird der Probenstrahl unterschiedlich reflektiert. Der durch einen Spiegel (Mirror) reflektierte Referenz- und der reflektierte Probenstrahl treten in demselben Strahlenteiler (Beam Splitter) in Interferenz und mit Hilfe des Spektrometers wird ein A-Scan Profil erzeugt.

Kang et al. 2013

Lankenau et al. gelang es, ein SD-OCT Gerät (entwickelt am Institut für Biomedizinische Optik der Universität Lübeck und hergestellt durch die Thorlabs HL AG, Lübeck) mit einem kommerziell erhältlichen Operationsmikroskop (HiRes1000, Möller-Wedel, Wedel) zu kombinieren (Lankenau et al. 2013). Hierdurch kann die OCT während der Operation in Echtzeit Gewebeprofile generieren. Diese weiterentwickelte Form der OCT nennt sich intraoperative

OCT, kurz iOCT. Die Eindringtiefe in das Gewebe beträgt bis zu 1,5 mm, variiert aber je nach dessen Beschaffenheit. Die axiale Auflösung der OCT-Bilder beträgt circa 7,5 μm und die laterale Auflösung circa 23 μm im Gewebe.

Für diese Arbeit wurde die von Lankenau et al. entwickelte iOCT verwendet.

1.4.1 Anwendung der OCT

Die OCT hat sich vor allem in der Ophthalmologie zur Beurteilung der Retina etabliert (Wei et al. 1999), (Garcia et al. 2017). Auch in anderen anatomischen Regionen, wie z.B. der Haut, des Ösophagus, der Vulva, der Cervix oder der Harnblase (Wessels et al. 2014) und außerhalb der Medizin (Stifter et al. 2005) wurde ihre Nützlichkeit überprüft.

Die Region des Kopf-Hals-Bereiches ist wegen ihrer anatomischen Lage besonders gut zugänglich für die OCT. Aufgrund der unterschiedlichen Lichtintensitäten lassen sich Epithel, Lamina propria und Basalmembran gut voneinander abgrenzen (Wong et al. 2005). Letztere zeigt sich als Grenzschicht zwischen Epithel und subepithelialer Schicht. Die Autoren untersuchten die Strukturen des Larynx in vivo mittels OCT. Dichtere Strukturen, wie Blutgefäße oder Kollagenfasern, erzeugen höhere Lichtintensitäten und grenzen sich so optisch von ihrer Umgebung ab. Auch in der Mundhöhle kann die Mikrostruktur der Gewebe mit Hilfe der OCT dargestellt werden (Chen et al. 2005). Die Autoren sahen zudem deutlich die Unterschiede der Epitheldicken der einzelnen Epithelarten in der Mundhöhle. Die OCT ist außerdem in der Lage, benigne und maligne Veränderungen der Gewebe aufzuzeigen (Ridgway et al. 2006). So sahen die Autoren im Falle von Leukoplakien eine erhöhte Epitheldichte und –dicke. Bei frühen Karzinomen ließ sich der Durchbruch der Basalmembran darstellen. Ein Beispielbild einer OCT-Aufnahme ist in Abb. 8 gegeben.

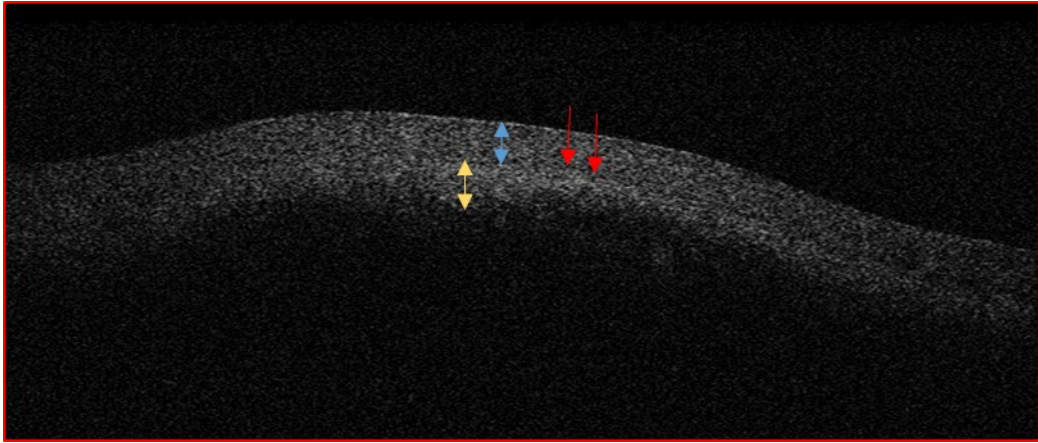


Abb. 8: Beispielbild einer OCT-Aufnahme der Wangenschleimhaut. Die Basalmembran (rote Pfeile) ist durch die Intensitätsunterschiede zwischen Epithel (blauer Pfeil) und der darunter liegenden Lamina propria (gelber Pfeil) als Linie abgrenzbar.

1.5 Starre konfokale Endomikroskopie (CEM)

1955 entwickelte Marvin Minsky die konfokale Mikroskopie. Hierbei beleuchtet das Licht nicht wie bei der Weißlichtmikroskopie das ganze Objekt, sondern wird auf einen Punkt fokussiert. Mit Hilfe einer Lochblende (Pinhole) wird das reflektierte Licht aus dem Fokuspunkt durchgelassen und andere Lichtstrahlen blockiert. So werden hohe Auflösungen erreicht (Minsky 1961). Der Begriff konfokal meint, dass 2 Strahlengänge denselben Brennpunkt besitzen. Bei der konfokalen Mikroskopie haben der Beleuchtungs- und der Beobachtungsstrahlengang denselben Brennpunkt, sie fokussieren also denselben Punkt (Borlinghaus 2016). Das weiße Licht wurde später durch Laserlicht ersetzt, welches aufgrund seiner Eigenschaften ideal zum Fokussieren geeignet ist (Alford et al. 1982).

Laserlicht wird also ausgesandt und auf einen Punkt des Objektes fokussiert. Dieser Punkt liegt auf der Fokusebene. Das von dort reflektierte Licht gelangt durch eine Lochblende zum Detektor. Hierbei sind der Strahlengang des Lasers und der des reflektierten Lichtes konfokal zueinander. Licht, welches von oberhalb oder unterhalb der Fokusebene reflektiert wird, gelangt nicht durch die Lochblende. So wird nur Licht aus einem bestimmten fokussierten Punkt des Objektes detektiert (Semwogerere et al. 2005).

Das Prinzip der Laser-Scanning-Konfokalmikroskopie (LSCM) ist in Abb. 9 dargestellt.

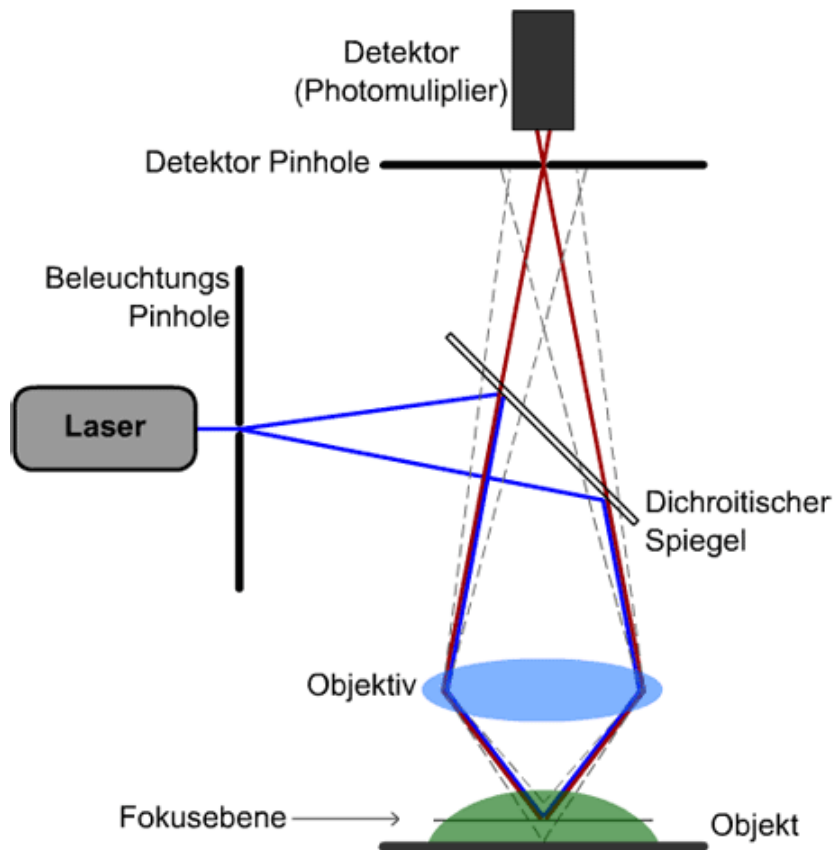


Abb. 9: Prinzip der Laser-Scanning-Konfokalmikroskopie. Das Laserlicht wird auf einen Punkt des Objektes fokussiert und von dort reflektiert. Es gelangt durch eine Lochblende zum Detektor. Licht, welches von ober- oder unterhalb der Fokusebene reflektiert wird, wird durch die Lochblende aufgehalten und nicht detektiert.

http://www.univie.ac.at/mikroskopie/3_fluoreszenz/img_fluoreszenz/clsm_OoF_big.png

Verschiebt man den fokussierten Punkt entlang der Horizontalen, also entlang der x- und y-Achse, kann ein zweidimensionales Bild erzeugt werden. Der fokussierte Punkt kann auch in axialer Richtung, entlang der z-Achse, verschoben werden. Hierbei ändert sich die Fokalebene. Durch Serienaufnahmen in verschiedenen Tiefen werden Bildstapel generiert, die auch als Sequenzen betrachtet werden können (Borlinghaus 2016).

Die CEM-Aufnahmen beinhalten eine Fläche von $400 \times 400 \mu\text{m}$ und es werden Eindringtiefen von $100\text{-}300 \mu\text{m}$ erreicht. Die laterale Auflösung beträgt circa $1\text{-}2 \mu\text{m}$ pro Pixel und die axiale Auflösung $2 \mu\text{m}$.

1.5.1 Anwendung der konfokalen Laser Scanning Mikroskopie

In den 1980er-Jahren wurde die konfokale Mikroskopie erstmals zur in vivo Untersuchung zellulärer Strukturen im Bereich der Ophthalmologie eingesetzt (Cavanagh et al. 1990). Auch heute noch liegen die Hauptanwendungsbereiche in der Untersuchung der einzelnen Augenabschnitte (Knappe et al. 2007), (Zhivov et al. 2005). Doch auch in der Früherkennungsdiagnostik von Atrophien und Metaplasien des Gastrointestinaltrakts gewinnt die CEM an Bedeutung (Bai et al. 2017). Des Weiteren liegen vielversprechende Ergebnisse im Bereich der Leber- und Pankreasdiagnostik (Goetz et al 2008, Krishna et al. 2017), sowie in der Diagnostik pulmonaler Erkrankungen vor (Wijmans et al. 2017).

Clark et al. 2003 analysierten in einer ex vivo Studie verschiedene Biopsien der Mundhöhle mit Hilfe der konfokalen Laser Scanning Mikroskopie und verglichen sie mit der Histologie. Gewebearchitektur und Zellmorphologie der LSCM-Aufnahmen ließen sich gut mit den histologischen Bildern vergleichen. Die Autoren beschrieben die einzelnen Zellkerne und die Zellgrenzen. Auch Muskelfasern und Drüsen konnten von der Umgebung abgegrenzt werden. Erstere erscheinen dunkel, da sie kaum Licht reflektieren. Drüsen zeigen sich als helle Strukturen, die von einem dunkleren Saum umgeben sind.

In einem Plattenepithelkarzinom konnte die Hyperkeratose als eine vom Zytoplasma ausgehende höhere Signalintensität gesehen werden. Auch Keratinperlen, Fibrosen, inflammatorische Zellen und natürlich die veränderte Zellmorphologie waren sichtbar.

In einem ähnlichen Versuchsaufbau begutachteten Just et al. 2006 Läsionen des Larynx mittel LSCM unter Beachtung folgender histologischer Kriterien: Kerngröße, Kerndichte, Zahl der Zellkerne, Kern-Plasma-Relation, Regularität der Zellschichten, Morphologie der Zellschichten sowie der einzelnen Zellen und das Vorhandensein von Zellgrenzen. Die variablen Zellformen und die veränderte Gewebearchitektur in Dysplasien ließen sich mittels LSCM identifizieren. Keratosen zeigten sich in Form von kernlosen Zellen. Die erhaltenen Zellgrenzen konnten ausfindig gemacht werden. Letzteres war im Falle eines Karzinoms nicht der Fall. Hier zeigten sich zudem in den LSCM-Aufnahmen vergrößerte Zellen mit stark vergrößerten Zellkernen und einer erhöhten Kern-Plasma-Relation. Die Zellarchitektur war irregulär und Zellklumpen waren sichtbar. Die o.g. histologischen Kriterien konnten also mittels LSCM gesehen werden. Abb. 10 zeigt ein Beispiel einer LSCM-Aufnahme.

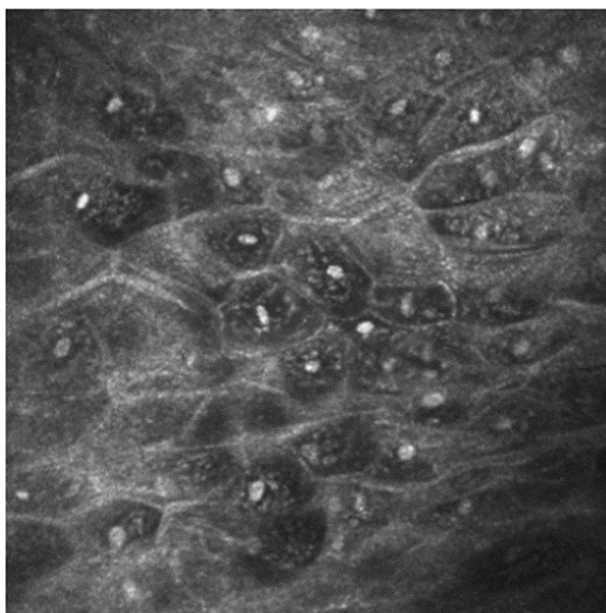


Abb. 10: Beispielbild einer LSCM-Aufnahme der gesunden Wangenschleimhaut. Die einzelnen Zellen sind durch die sichtbaren Zellverbindungen voneinander abzugrenzen und ihre Morphologie beurteilbar. Auch die Zellkerne sind deutlich zu erkennen. Das Bild wirkt homogen, ohne Abnormitäten in der Gewebearchitektur.

1.5.2 Der Heidelberg-Retina-Tomograf und das starre konfokale Endoskop

Der Heidelberg Retina Tomograf (HRT) beruht auf dem Prinzip der Laser Scanning Tomografie und dient seit den 90er Jahren der Beurteilung von Augenabschnitten (Rohrschneider et al. 1993). Stave et al. von der Augenklinik der Universitätsmedizin Rostock erweiterten 2002 den Heidelberg Retina Tomografen mittels mechanischer und elektronischer Adaptierung zu einem digitalen konfokalen Laser Scanning Mikroskop. Seitdem finden die konfokalmikroskopischen Untersuchungen an der Universität Rostock mit dem HRT II (Heidelberg Engineering) statt.

Um Strukturen des Larynx mittels LSCM auch in vivo beurteilen zu können, wurde von Prof. Stave in Zusammenarbeit mit der Firma Storz, Tuttlingen, ein starres konfokales Endoskop entwickelt (Just et al. 2011). Der Strahlengang des HRT II wird verlängert und die Fokusebene verlagert. In einer in vivo tierexperimentellen Studie an Mäusezungen wurde die Funktion der neu entwickelten starren konfokalen Endomikroskopie (CEM) überprüft (Farahati et al. 2010). Es folgte eine experimentelle in vivo Studie am Patienten (Just et al. 2013). Hier konnte der Chirurg ohne Assistenz das starre konfokale Endoskop bedienen und prä-maligne laryngeale Veränderungen mit Hilfe der CEM intraoperativ visualisieren.

1.6 Problemstellung

1.6.1 Diagnostik von unklaren Schleimhautveränderungen der Mundhöhle

Trotz der guten Erreichbarkeit der Mundhöhle während der körperlichen Untersuchung werden viele dort lokalisierte Malignome erst in späten Stadien diagnostiziert (Steele et al. 2011). Die Überlebensraten hängen aber deutlich vom Stadium der Erkrankung bei Erstdiagnose ab (Kademani et al. 2005). Die frühe Diagnose ist somit essentiell für das Outcome des Patienten (Neville et al. 2002).

Vor allem Mundhöhlenkarzinome im Stadium T1 und ulzerierende Läsionen erhöhen das Risiko einer Diagnoseverzögerung, da diese Läsionen häufig fehlinterpretiert werden (Onizawa et al. 2003).

Laut der Leitlinie „Diagnostik und Management von Vorläuferläsionen des oralen Plattenepithelkarzinoms in der Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde“ sollen klinisch malignomsuspekte Befunde einer histopathologischen Untersuchung zugänglich gemacht werden. Besteht bei nicht malignomsuspekten Befunden seitens des Untersuchers eine Restunsicherheit wird die Bürstenbiopsie empfohlen. Diese trennt Zellen aus mittleren und tieferen Zellschichten heraus, so dass sie zytologisch untersucht werden können. Allerdings schwanken die Angaben zur Sensitivität der Bürstenbiopsie zwischen 71% und 91%, die der Spezifität sogar zwischen 32% und 91% (Poate et al. 2004), (Remmerbach et al. 2004). Dem zytologischen Charakter der Bürstenbiopsie liegt inne, dass Gewebe nicht im Verband beurteilt werden kann. An dieser Stelle wird deutlich, dass eine diagnostische Lücke zwischen der makroskopischen Einschätzung einer Läsion und deren Beurteilung mittels Histologie vorliegt.

In dieser Arbeit wird untersucht, inwieweit die CEM und die OCT in der Lage sind, diese diagnostische Lücke zu schließen und ob diese Verfahren dem Kliniker bei der Entscheidung zwischen der Verlaufskontrolle und der histologischen Abklärung einer Läsion unterstützen können. Hierbei soll es vor allem um Läsionen gehen, deren Dignität mittels makroskopischer Beurteilung nicht klar einzuschätzen ist, die also laut Leitlinie mittels Bürstenbiopsie untersucht werden würden.

1.6.2 Makroskopische Beurteilung von unklaren Schleimhautveränderungen der Mundhöhle

Dem initial aufgesuchten Arzt kommt eine entscheidende Rolle in der Diagnostik des Mundhöhlenkarzinoms zu (Speight et al. 2007). Die korrekte Neoplasiediagnose hängt dabei vor allem von der klinischen Erfahrung des Untersuchers ab (Gillenwater et al. 2006). In einer Pilotuntersuchung wurden Fotografien von Mundhöhlenläsionen Klinikern zur Beurteilung vorgelegt. Dabei sollte die Gesamtläsion hinsichtlich der Dignität eingeschätzt und angege-

ben werden, wo eine Probe entnommen werden sollte. Zudem sollte für jede Probeentnahmestelle der Mundhöhle separat eine Dignitätseinschätzung vorgenommen werden. Anschließend wurden die Ergebnisse der Einschätzung mit denen der histopathologischen Untersuchung verglichen.

1.7 Zielsetzung

- Erheben von OCT-Normaldaten gesunder Epithelien der Mundhöhle (Lippe, vorderer Mundboden, Wange, Zunge) mittels systematischer Tiefenscans
- Erheben von CEM-Normaldaten von Epithelien der Mundhöhle mittels systematischer Oberflächen- und Tiefenscans
- Definition von Cutoffs für die OCT für die Epitheldicken der verschiedenen Regionen der Mundhöhle zur Unterscheidung von low- und high-grade Läsionen
- Ermittlung der Kriterien der diagnostischen Güte von OCT, CEM und deren Kombination im Abgleich mit der histopathologischen Untersuchung zur Unterscheidung von low- und high-grade Läsionen der Mundhöhle
- Pilotstudie zur Beurteilung von Läsionen der Mundhöhle mittels Weißlichtmikroskopie und deren Abhängigkeit von der Erfahrung des Untersuchers
- Einschätzung der Anwendbarkeit, der Bedeutung und des Nutzens der Optischen Kohärenztomografie und der starren konfokalen Endomikroskopie in der Diagnostik von prämaligen Läsionen der Mundhöhle und Vergleich mit dem Standardverfahren, der Bürstenbiopsie (Daten aus der Literatur)

2 Material und Methoden

2.1 Beurteilung von Läsionen der Mundhöhle mittels OCT und CEM

2.1.1 Studiendesign, Kontrollgruppe und Patienten

Diese prospektive Studie wurde zwischen Januar 2013 und Mai 2014 an der Hals-Nasen-Ohren-Klinik der Universitätsmedizin Rostock durchgeführt. Die OCT-Untersuchungen wurden in Kooperation mit dem Institut für Biomedizinische Optik der Universität Lübeck vorgenommen. Die Ethikkommission des Landes Mecklenburg-Vorpommern überprüfte das Design der Studie. Jeder Patient wurde über Inhalt und Ablauf der Untersuchungen aufgeklärt und gab sein schriftliches Einverständnis zur Teilnahme an der Studie.

Patienten mit Primärläsionen der Mundhöhle (vorderer Mundboden, Wangenschleimhaut, Mundvorhof, Zungenrand, vorderer Gaumenbogen), welche verdächtig für low- beziehungsweise high-grade Läsionen waren und eine Indikation für eine diagnostische Biopsie darstellten, wurden für diese Studie rekrutiert.

Bestand keine Indikation für eine Biopsie/Exzision der Läsion während der Panendoskopie oder handelte es sich klinisch wie auch histologisch um ein invasives Karzinom (T1-T4), galt dies als Ausschlusskriterium. Auch Patienten, denen es nicht möglich war, ihr Einverständnis zu geben, beziehungsweise Minderjährige (<18 Jahre), wurden von der Studie ausgeschlossen. Die Patienten hatten jederzeit die Möglichkeit, die Teilnahme an der Studie, ohne Angabe von Gründen, zurückzuziehen.

Für OCT- und CEM-Studie wurden insgesamt 27 Patienten des Instituts für Hals-Nasen-Ohrenheilkunde der Universitätsmedizin Rostock rekrutiert. Es handelte sich um 16 Männer und 11 Frauen mit einem Durchschnittsalter von 57 Jahren ($SD \pm 11$ Jahre). Zusätzlich wurden 5 gesunde Teilnehmer einbezogen, um Normaldaten der optischen Kohärenztomografie und der konfokalen Endomikroskopie zu generieren. Bei letzteren betrug das durchschnittliche Alter 39,6 Jahre ($SD \pm 10,3$ Jahre).

2.1.2 Einteilung der Befunde nach einem binären System

In dieser Arbeit wurden die Befunde anhand eines binären Systems in low- und high-grade Dysplasien eingeteilt. Es soll geklärt werden, ob die OCT und die CEM dem Untersucher die Entscheidung erleichtern können, ob eine Läsion zu kontrollieren oder zu biopsieren ist. Da diese beiden Möglichkeiten im Umgang mit einer Läsion bestanden, bot sich die Einteilung in ein binäres System an. Die Leitlinie „Diagnostik und Management von Vorläuferläsionen des oralen Plattenepithelkarzinoms in der Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde“ empfiehlt, leichte

Dysplasien zu kontrollieren und moderate, sowie schwere Dysplasien zu exzidieren. Analog dazu gelten in dieser Arbeit leichte Dysplasien als kontrollbedürftige Läsionen und moderate, sowie schwere Dysplasien als behandlungsbedürftig.

2.1.3 Optische Kohärenztomografie

2.1.3.1 Apparatur

Die verwendete OCT-Kamera wurde uns von der OptoMedical Technologies GmbH, Lübeck, Deutschland zu Studienzwecken bereitgestellt. Diese wurde an den Kamera-Anschluss des chirurgischen Mikroskops Hi-R 1000 NIR (Haag-Streit Surgical GmbH, Wedel, Deutschland), wie von Lankenau et al. 2013 eruiert, angebracht (Abb. 11). Die Lichtquelle der OCT-Kamera besaß eine Wellenlänge von 840 nm. Daher ist das Mikroskop für Lichttransmissionen im Bereich des infraroten Lichts (780-1000 nm) optimiert. Zusätzlich zur Lichtquelle bestand die OCT-Kamera aus einem SD-OCT-Detektor, einem OCT-Scanner und einer motorisierten Referenzoptik. Letztere ermöglichte dem Chirurgen die Veränderung der Arbeitsdistanz zwischen 220 mm und 500 mm.

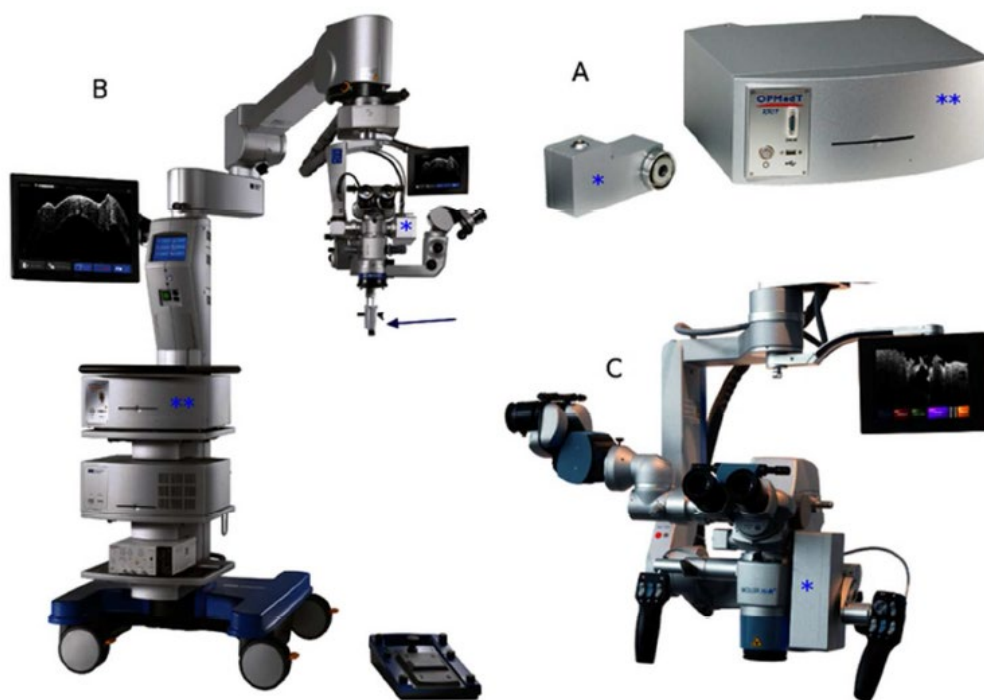


Abb. 11: Aufbau des OCT-Gerätes.
Die OCT-Kamera (B) besteht aus einem Scannerkopf (*) und einer Basiseinheit (**) mit einer Lichtquelle und einem Detektor (A). Ein Operationsmikroskop (C) wird an die OCT-Kamera (Hi-R 1000 NIR Haag Streit Surgical GmbH, Moeller-Wedel, Deutschland) angeschlossen.

Lankenau et al. 2013

Die optische Tiefe des OCT-Bildes betrug 4,2 mm in der Luft. Gewebe konnte je nach Beschaffenheit bis zu 1,5 mm tief dargestellt werden. In der Tiefe bot das OCT-Bild 1024 Pixel. Der axiale Pixelabstand in der Luft betrug 4,1 μm und im Gewebe 3,1 μm mit einem Brechungsindex von 1,34, welcher zu berücksichtigen war. Die axiale OCT-Auflösung betrug ungefähr 10 μm in der Luft und circa 7,5 μm im Gewebe. Die laterale Scanbreite hing von der Vergrößerung des Mikroskops ab und konnte zwischen 5 und 30 mm variiert werden. Die laterale Auflösung des OCT-Systems war abhängig von der zentralen Wellenlänge und der numerischen Apertur. Der Arbeitsabstand konnte zwischen 220 mm und 500 mm variiert werden. Wenn sich die Vergrößerung und der Arbeitsabstand veränderten, veränderte sich ebenfalls die numerische Apertur. Die beste Bildqualität wurde bei einer lateralen Auflösung von 23 μm in maximaler Vergrößerung und einem Arbeitsabstand von 232 mm erreicht.

2.1.3.2 Intraoperative Anwendung

Die OCT-Kamera wurde mittels eines Adapters an das Operationsmikroskop gekoppelt. So war es möglich, dass das Sichtfenster des Mikroskops dem der Kamera entsprach. Zudem konnte die Bedienung der OCT-Kamera über das Operationsmikroskop und zusätzlich über einen verbundenen Touchscreen Monitor erfolgen. Auf diesem Monitor konnten außerdem die iOCT-Bilder in Echtzeit begutachtet werden.

Der Chirurg wählte die zu untersuchenden Areale der Mundhöhle aus und führte den OCT-Scan durch. Zur Orientierung zeigte ein grüner Pilotstrahl den Scanbereich an und ermöglichte dem Chirurgen die genaue Bestimmung der Lokalisation der späteren Biopsie. So wurden mit Hilfe der OCT intraoperativ senkrechte Querschnittsbilder einzelner ausgewählter Mundhöhlenabschnitte erzeugt. Der Vorgang des Scannens konnte durch den Operateur manuell gestartet werden. Die Querschnitte wurden auf dem Touchscreen abgebildet und digital gespeichert. Beim Gebrauch des Operationsmikroskops wurde ein Arbeitsabstand zu den betroffenen Arealen zwischen 224 mm und 280 mm verwendet. Die Vergrößerung variierte zwischen 4.0 und 7.0.

Nach dem Scanvorgang wurden die ausgewählten Areale fotografiert und biopsiert. Zum späteren Vergleich der OCT-Bilder mit der Histopathologie wurde die Biopsie so exakt wie möglich aus derselben Region entnommen, an welcher zuvor die Messung erfolgte.

2.1.3.3 Auswertung der OCT-Bilder

Die Auswertung der erworbenen OCT-Scans erfolgte für 33 Biopsien/Exzisionen von 27 Patienten und für 5 gesunde Personen.

Die Messungen wurden ohne die Kenntnis über die jeweiligen histopathologischen Befunde vollzogen. In die Auswertung gingen alle Bilder von Patienten ein, zu welchen auch die korrespondierenden histopathologischen Schnitte verfügbar waren.

Die Bilder wurden digital als .raw Dateien gesichert. Alle OCT .raw Dateien wurden mit Hilfe des Programms Image J (Version 1.45s, NIH, USA) importiert. Die Basiseinstellung betrug 1024 Pixel in der Höhe und 1000 Pixel in der Breite. Die Konvertierung erfolgte in 8-bit. Zur leichteren Orientierung wurden die Bilder so gedreht, dass die Epitheloberfläche in Richtung oberer Bildkante zeigte. Im Anschluss konnten, falls nötig, Kontrast, Schärfe und Helligkeit reguliert werden. Ziel dabei war es, die Grenze zwischen der epithelialen Schicht und der Lamina propria als Korrelat der Basalmembran des Gewebes möglichst gut abgrenzen zu können. Diese war als graue Abstufung klar sichtbar (siehe Abb. 12).

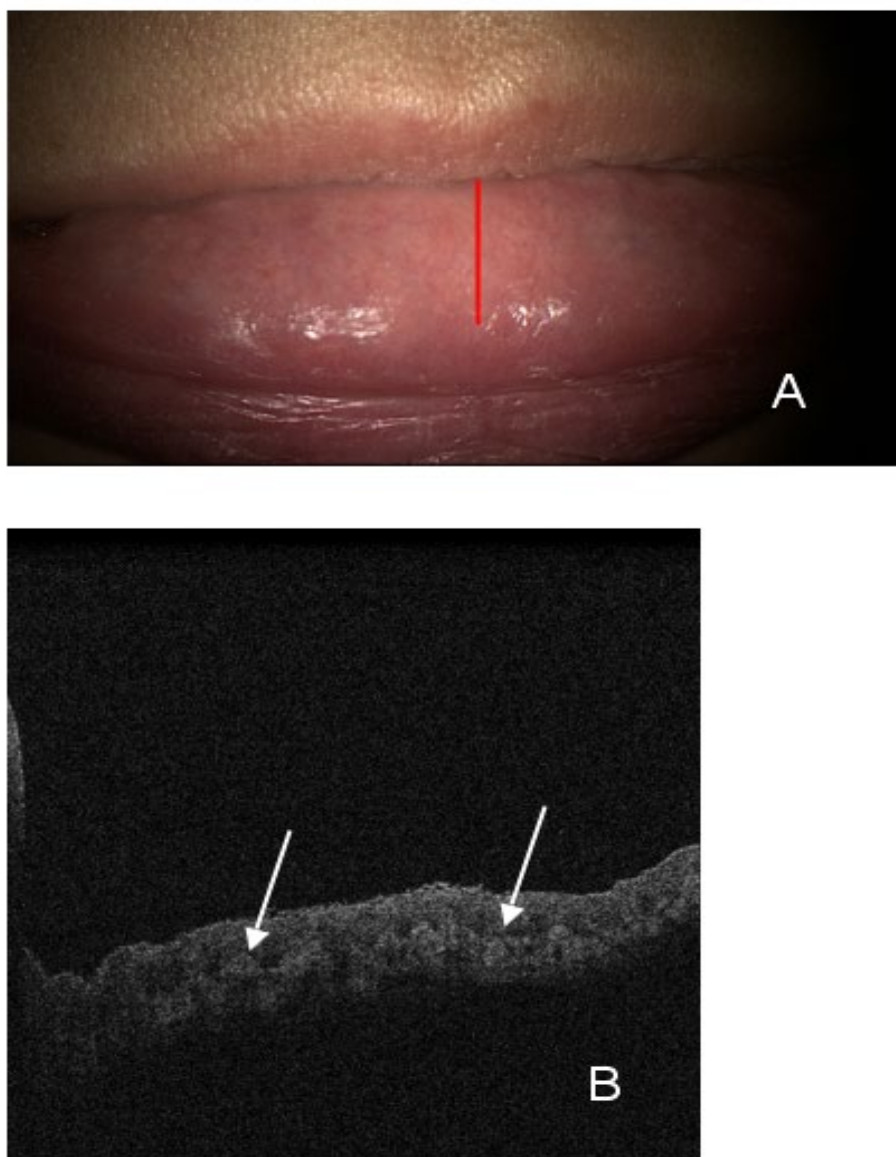


Abb. 12: OCT-Bild einer gesunden Unterlippe.

Bild A zeigt eine gesunde Unterlippe mit roter Linie in der Scanposition der iOCT. Bild B ist ein OCT-Bild der eingezeichneten Region der gesunden Unterlippe. Die weißen Pfeile zeigen die Grenzschicht zwischen dem Epithel und der Lamina propria (300x300 DPI) als Korrelat zur Basalmembran.

Weitere Beispiele befinden sich im Anhang (Abb. 39-42).

Durch die klare Abgrenzung der Basalmembran war es möglich, die Epitheldicke zu messen. Zur Verbesserung der Genauigkeit wurden pro Bild 10 Messungen vorgenommen und aus diesem der Querschnitt gebildet. Ausgemessen wurden die breitesten Stellen des Epithels, da es um die Abgrenzung zwischen maligner und benigner Läsion mit Hilfe der Epitheldicke

ging (siehe unten). Bei dem Ergebnis handelte es sich also pro Läsion um den Durchschnittswert der Maximalwerte der Epitheldicke. Mit Hilfe des Programms Image J (Version 1.45s, NIH, USA) konnte allerdings lediglich die Pixellänge gemessen werden. Um diese in das metrische System zu überführen, wurden folgende Schritte unternommen: Zunächst wurde diese Verhältnisgleichung aufgestellt:

$$\text{Tiefe des optischen Fensters der OCT-Kamera/ Größe der Pixel in der Höhe} = \\ D / \text{Mittelwert der ausgemessenen Maximalwerte}$$

Tiefe des optischen Fensters der OCT-Kamera = 4200 µm

Größe der Pixel in der Höhe = 1024

D = Dicke des Gewebes in µm

Daraus ergibt sich wiederum die Gleichung:

$$4,1 \times \text{Mittelwert der Maximalwerte} = D$$

Nun musste noch der Brechungsindex von 1,34 beachtet werden:

$$4,1 / 1,34 = 3,1$$

Ein Pixel entsprach somit 3,1 µm im OCT-Scan.

Folglich wurde der für jede Läsion errechnete Mittelwert der 10 maximalen gemessenen Werte mit 3,1 multipliziert um die Epitheldicke in µm zu erhalten.

Um die gemessenen Werte als low- oder high-grade Läsion einstufen zu können, musste für jede Region der Mundhöhle eine bestimmte Epitheldicke als Grenze ("Cutoff") zwischen beiden Möglichkeiten fungieren. Wie diese Grenze gesetzt wurde, wird unter "2.1.3.4. Erläuterung der Cutoff Setzung" verdeutlicht.

Die Ergebnisse der mittels OCT durchgeführten Epitheldickenmessungen von definierten Regionen der Mundhöhle (vorderer Mundboden, Wangenschleimhaut, Mundvorhof, Zungenrand, vorderer Gaumenbogen) wurden mit den histopathologischen Resultaten verglichen.

Was sich bei der histopathologischen Beurteilung als Hyperkeratose, Hyperplasie (mit oder ohne Zellatypien), Entzündung oder milde/geringe Dysplasie herausstellte, wurde als low-grade Läsion, moderate und starke Dysplasie sowie Carcinoma in situ hingegen als high-grade Läsion eingestuft.

2.1.3.4 Erläuterung der Cutoff Setzung

Um die mittels OCT gemessenen Epitheldicken als low- beziehungsweise high-grade Läsion definieren zu können, musste eine bestimmte Epitheldicke als Grenze zwischen beiden Möglichkeiten festgelegt werden. Es wurden von den 5 gesunden Teilnehmern die maximalen Epitheldicken der einzelnen Regionen mittels OCT gemessen. Die so ermittelten Werte befinden sich im Ergebnisteil. Diese Normaldaten (Tabelle 3) und die von Prestin et al. publizierten Epitheldickenwerte gesunder Mundschleimhäute wurden den Epitheldickenmessungen maligner und prä maligner Mundschleimhautläsionen von Voruntersuchungen (unveröffentlichte Daten) gegenüber gestellt und willkürlich ein Cutoff gesetzt. Voruntersuchungen von Mundhöhlenläsionen verschiedener Schweregrade in Korrelation mit der Histopathologie haben zu dieser Festlegung geführt.

Tab. 3: Publierte durchschnittliche Epitheldicke und von uns gesetzter Cutoff.

Anatomische Region	Durchschnittliche publizierte Epitheldicke (μm) (Prestin et al.) und Standardabweichung	Verwendeter Cutoff (μm) zur Differenzierung zwischen low- und high-grade Läsion
Vorderer Mundboden	99 ± 22	250
Vorderer Gaumenbogen	124 ± 26	220
Zungenrand	216 ± 59	260
Wangenschleimhaut	294 ± 68	350
Mundvorhof	nicht vorhanden	250

2.1.4 Konfokale Endomikroskopie

2.1.4.1 Apparatur

Für die CEM-Messungen wurde ein individuell angefertigtes starres Endoskop verwendet (Karl Storz, Tuttlingen). Dieses besitzt eine Länge von 23 cm und einen Durchmesser von 5 mm. Das starre Endoskop wurde mittels Konnektor (Karl Storz, Abb. 13) mit dem Scanner

des Heidelberg Retina Tomografen II (HRT II, Heidelberg Engineering, Heidelberg) verbunden. Dieser Konnektor wurde zu diesem Zweck von der Firma Karl Storz GmbH & Co.KG, Tuttlingen in Zusammenarbeit mit Prof. Stave (Universitätsmedizin Rostock, Augenheilkunde) entwickelt. Hiermit ließen sich die verschiedenen Regionen der Mundhöhle untersuchen und die Startscanebene im Gewebe manuell einstellen.

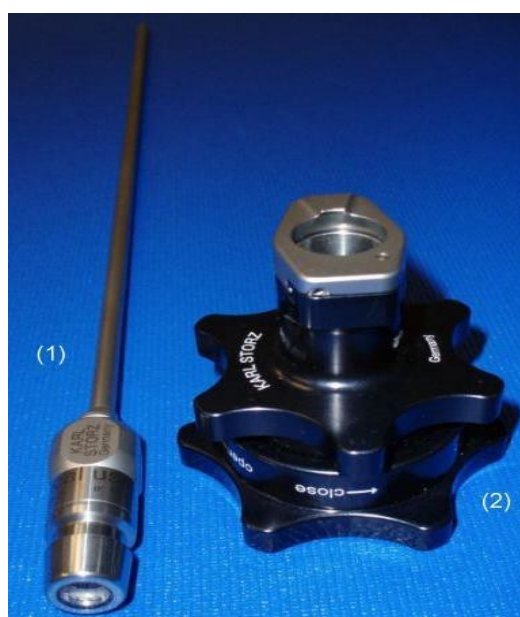


Abb. 13: Starres konfokales Endoskop.
starres konfokales Endoskop (1) und Adapter (2)

Farahati et al. 2013, KARL STORZ GmbH & Co.KG, Tuttlingen, Deutschland

Der HRT II ist über den speziell gefertigten Adapter mit dem Endoskop verbunden (Abb. 14).

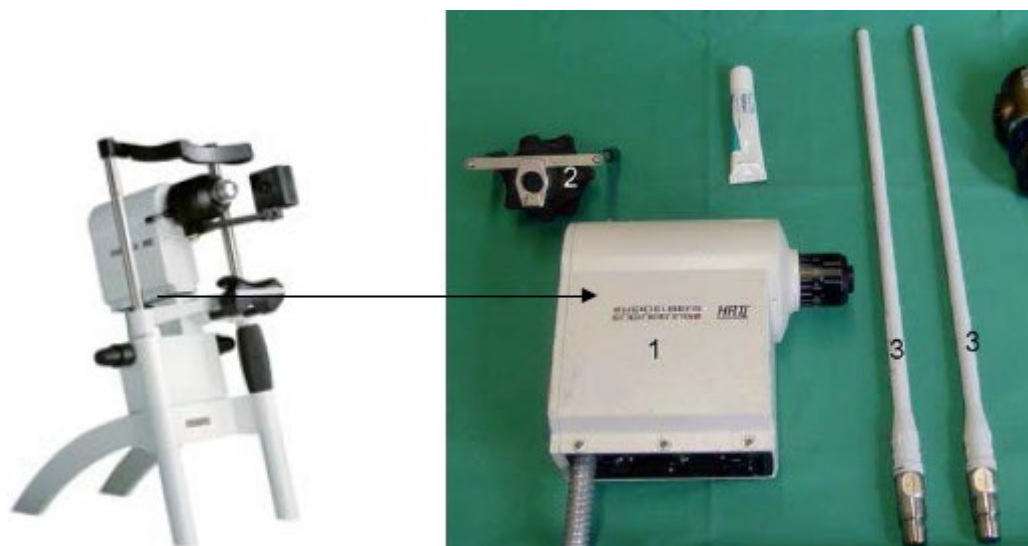


Abb. 14: Aufbau des CEM-Gerätes.
 1: Scanner des HRT II; 2: Konnektor; 3: starres konfokales Endoskop
 Just et al. 2011,
<http://www.heidelbergengineering.com/international/products/hrt/hrt-cornea>

Die Kombination dieser Geräte ist bereits aus früheren Studien der Hals-Nasen-Ohren-Klinik der Universitätsmedizin Rostock (Farahati et al. 2010, Just und Pau et al. 2013, Stülpnagel et al. 2016) bekannt.

Die Beleuchtung wird durch einen 670 nm Diodenlaser realisiert. Das Endoskop ist autoklavierbar. Am Ende weist das Endoskop eine konkave Eindellung einschließlich eines zentralen Loches auf. Dies vermeidet die zu starke Kompression des zu beschauenden Gewebes. Die Bilder hatten eine Fläche von 400 x 400 μm und es wurde eine Eindringtiefe von 100-300 μm erreicht. Die laterale Auflösung betrug circa 1-2 μm und die axiale Auflösung circa 2 μm .

2.1.4.2 Intraoperative Anwendung

Das starre konfokale Endoskop wurde im Kontaktmodus verwendet. Das Ende des Endoskops wurde auf der Läsion platziert. Durch Verwendung eines Kontaktgels (Vidisc, Dr.Mann Pharma Berlin, Germany), konnten stärkere Reflexionen vermieden werden. Die abgebildete Region wurde anschließend so präzise wie möglich biopsiert, um einen Vergleich zwischen Histopathologie und den Volumenschnitten der CEM-Aufnahmen zu ermöglichen.

Zur optischen Probenentnahme wurden 3 Modi verwendet. Der Sektionsmodus wurde benutzt, um einzelne Bilder zu produzieren. Im Sequenzarchivierungsmodus wurden bis zu 100 Bilder gesichert, wobei das Endoskop über die gegebene Fläche glitt. Im Volumen- beziehungsweise 3D-Modus wurden pro Volumenscan 40 Bilder erzeugt. Der Abstand zwischen 2

untereinander liegenden Bildflächen betrug 2 µm. Die Eindringtiefe betrug 80 µm pro Volumenscan. Die benötigte Zeit für die Erfassung eines Volumenscans betrug 6 Sekunden.

Pro Patient und Gewebeprobe wurden mehrere Sequenzen und Volumenscans durchgeführt, abgespeichert und in eine Datenbank überführt.

2.1.4.3 Auswertung der CEM-Bilder

Die wie oben beschrieben gewonnenen Sequenzen und Volumenscans wurden zunächst als Einzelbilder im jpg. Format gespeichert und später zu .mov Videodateien konvertiert. Die Beurteilung der CEM-Aufnahmen der gesunden Kontrollgruppe und die der Patienten erfolgte ohne Kenntnis der histopathologischen Befunde.

Die Volumenscans der normalen Schleimhäute galten als Referenzen für die jeweilige Region. Sie zeigten den bereits aus Vorarbeiten bekannten Aufbau (Burmeister et al. 2009, Farahati et al. 2010, Just et al. 2012). Das Epithel zeigte sich von der Oberfläche bis zur Basalzellschicht regelrecht. Die Zellgrenzen waren sichtbar, jede Zelle enthielt einen Zellkern. Das oberflächliche Epithel zeigte große Zellen mit verdichteten Zellkernen. Circa 50 µm tiefer erschienen die Zellen kleiner und in ihrer Form regelmäßiger. In der Basalzellschicht war die Zelldichte deutlich erhöht. Zudem stellte sich eine vergrößerte Kern-Plasma-Relation dar.

Eine Auswahl an Volumenscans befindet sich im Anhang (Abb. 28-38).

Die Auswertung der CEM-Aufnahmen erfolgte wie die histologischer Präparate und berücksichtigte die Morphologie der Zellen und Zellverbände, die Kern-Plasma-Relation, das Vorhandensein doppelkerniger oder atypischer Zellen, die Zellverbindungen und Hyperkeratosen. Auch musste in die Bewertung eingegangen werden, in welcher Schichttiefe die Atypien zu finden waren, um den Schweregrad der Dysplasie einschätzen zu können.

Betraff die Veränderung das untere Epitheldrittel, also die Basal- und Parabasalschicht, handelte es sich um eine milde Dysplasie. Es lagen milde Kernpleomorphismen und nur minimale Veränderungen der Gewebearchitektur vor. Eine moderate Dysplasie bestand, wenn die Veränderungen bis ins mittlere Epitheldrittel reichten. Prominente Kernpleomorphismen und hyperchrome Zellen waren sichtbar. Häufig wurden auch Hyperkeratosen gesehen. Bei der starken Dysplasie reichten die oben genannten abnormen Veränderungen bis ins obere Epitheldrittel. Die gewöhnliche Zellschichtung konnte komplett aufgehoben sein.

Zur Berechnung der Kriterien der diagnostischen Güte wurden entzündliche Schleimhautveränderungen mit oder ohne Zellatypien, Hyperkeratosen und epitheliale Hyperplasien mit leichten Dysplasien als low-grade Läsion und moderate sowie starke Dysplasien und CIS als high-grade Läsion eingestuft.

Ein Beispielbild einer CEM-Aufnahme ist in Abbildung 15 dargestellt.

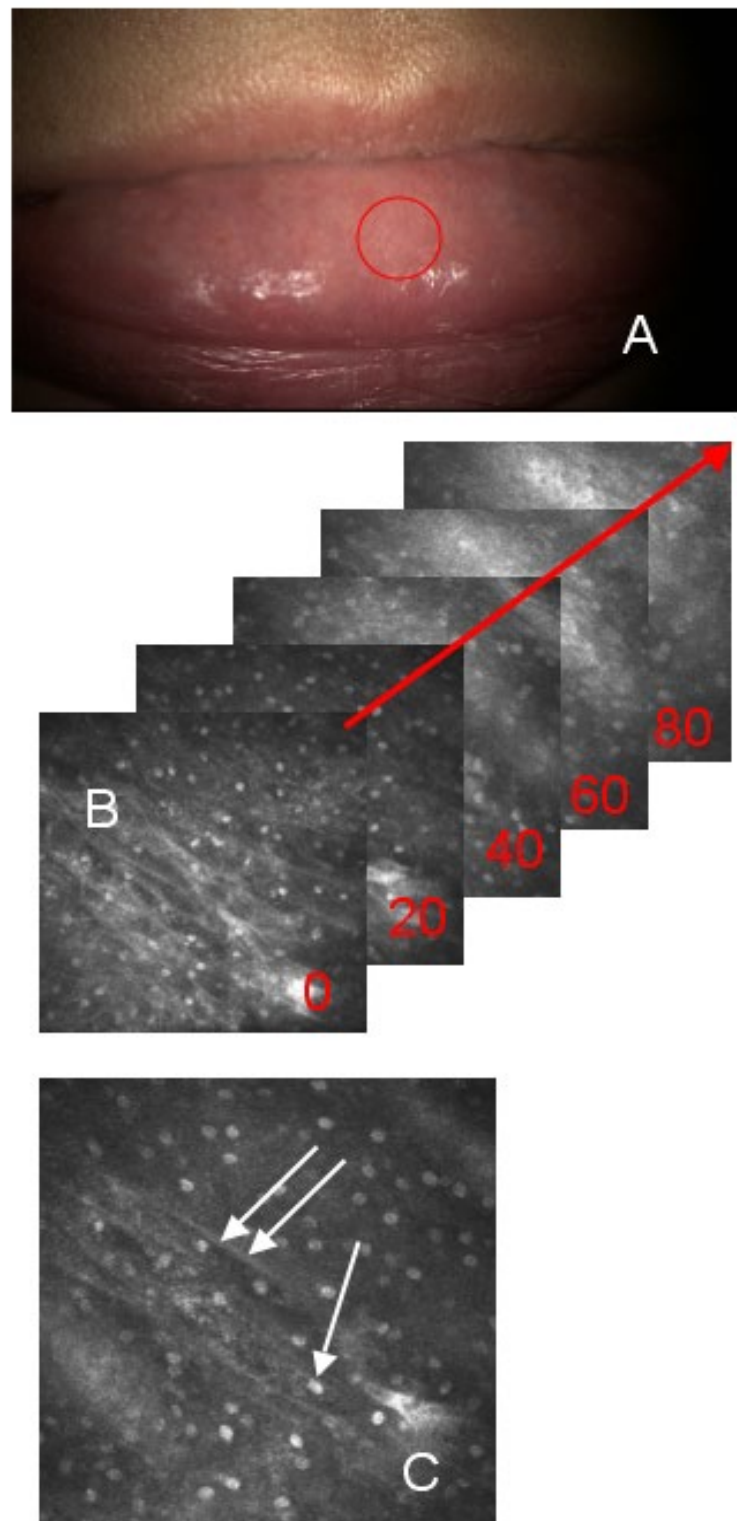


Abb. 15: CEM-Bild einer gesunden Unterlippe.

CEM-Bild einer gesunden Unterlippe (A). Fotografie mit rotem Kreis für die CEM-Scanposition. CEM-Stapelaufnahmen der Unterlippe (0-80 μm - automatischer Tiefenscan) (B). Tiefenscan bei 20 μm (C). Die weißen Pfeile zeigen einen Zellkern (einfacher Pfeil), sowie eine Zellmembran (doppelter Pfeil) (300x300 DPI).

2.1.5 Auswertung der mittels Histologie, CEM und OCT eingestuften Läsionen

Es wurden 33 Biopsien von 27 Patienten entnommen. Sind 2 Biopsien von einem Patienten in die Bewertung eingegangen, handelte es sich stets um Proben aus unterschiedlichen Lokalisationen der Mundhöhle, so zum Beispiel aus Zunge und Mundboden.

Wurde eine Läsion anhand der oben genannten Kriterien als low-grade Dysplasie eingestuft, wurde ihr die Ziffer 1 zugeordnet. Als high-grade Dysplasie bezeichnete Läsionen wurden mit der Ziffer 2 versehen. So konnten die Bewertungen der einzelnen Läsionen in eine Excel-Tabelle übertragen und die Ergebnisse aus Histologie, CEM und OCT für jede Läsion gegenüber gestellt werden. Die Histopathologie stellt den Goldstandard in der Bewertung von Läsionen dar. Daraus folgend wurden die Ergebnisse von OCT und CEM jeweils mit denen der Histologie verglichen und in Vierfeldertafeln (siehe Anhang, Tab. 16-18) übertragen. Schließlich konnten so die diagnostischen Gütekriterien errechnet werden (siehe 2.4).

Zusätzlich wurden die beiden Methoden OCT und CEM in Kombination gesehen und ausgewertet. Hier wurde eine Läsion nur dann als low-grade Dysplasie eingestuft, wenn beide Untersuchungen dieses Ergebnis erbracht hatten. Wurde eine Läsion durch eine oder beide Methoden als high-grade Dysplasie eingestuft, so wurde ihr wiederum die Zahl 2 zugeordnet.

2.2 Klinische Pilotstudie zur makroskopischen Beurteilung schwer einschätzbarer Läsionen der Mundhöhle

2.2.1 Ziel der klinischen Pilotstudie

Ziel der klinischen Pilotstudie war es zu eruieren, inwieweit Läsionen der Mundhöhle anhand der Makroskopie in Abhängigkeit von der Erfahrung des Untersuchers beurteilt werden können. Es sollte von dem Untersucher konkret eine Dignitätsbeurteilung von Aufnahmen von Mundhöhlenläsionen vorgenommen werden, wohlwissend, dass dies von einem Kliniker nicht verlangt wird.

2.2.2 Methodisches Vorgehen

Via Power Point präsentierte man den Studienteilnehmern Fotografien von klinisch schwer als prämaligne, maligne oder benigne einzustufenden Läsionen der Mundhöhle. Die zu beurteilenden Areale wurden im Rahmen einer klinischen Studie während einer panendoskopischen Untersuchung bereits fotodokumentiert und biopsiert bzw. exzidiert sowie einer histopathologischen Befunderhebung unterzogen. Zusätzliche Informationen, wie Anamnese oder Verschieblichkeit des Epithels, wurden dem Untersucher nicht zur Verfügung gestellt.

Jedem Studienteilnehmer wurden 5 Patientenbeispiele (Abb. 16) mit schwer einzuschätzenden Läsionen der Mundhöhle gezeigt.



Abb. 16: Bilder von schwer einzuschätzenden Läsionen der Mundhöhle.

Die Bilder zeigen klinisch schwer einzuschätzende Läsionen der Mundhöhle. Die Studienteilnehmer sollten eine Verdachtsdiagnose für die gesamte Läsion mittels Multiple-Choice-Verfahren angeben. Hierzu stand den Teilnehmern ein Fragebogen mit folgenden Antwortmöglichkeiten zur Verfügung:

- A: gesund
- B: Entzündung, Hyperplasie
- C: low-grade Dysplasie
- D: high-grade Dysplasie
- E: Plattenepithelkarzinom

Im Vordergrund stand die Unterscheidung zwischen kontrollbedürftiger low-grade Dysplasie und behandlungsbedürftiger moderater oder high-grade Dysplasie. Um den Studienteilnehmern ein größeres Spektrum an Läsionen und somit eine exaktere Auswahl zu ermöglichen, standen die oben genannten 5 Antwortmöglichkeiten zur Verfügung.

In einer weiteren Aufgabe wurden auf der gleichen Fotografie genau definierte und nummerierte Areale vorgegeben (Abb.17), aus denen die Teilnehmer eines oder mehrere auswählen und pro gewähltem Areal eine Verdachtsdiagnose angeben sollten.

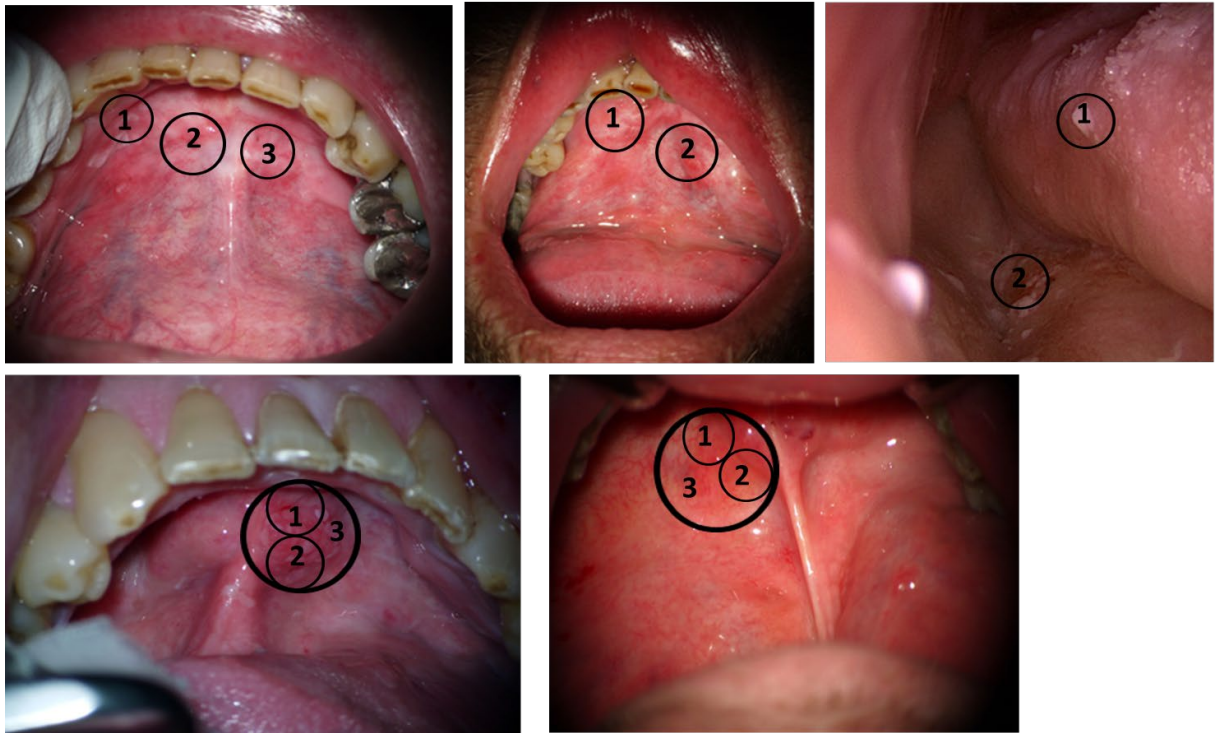


Abb. 17: Bilder der schwer einzuschätzenden Läsionen der Mundhöhle mit definierten Arealen.

Wiederum sollte via Multiple-Choice-Verfahren eine Verdachtsdiagnose A-E (siehe oben) angegeben werden.

Aus insgesamt 10 Arealen ist tatsächlich eine Probe entnommen und einer histopathologischen Untersuchung zugeführt worden, anhand dessen ein Vergleich der Verdachtsdiagnosen der Teilnehmer mit den Ergebnissen der Histologie erfolgte.

Die klinische Evaluation erfolgte an insgesamt 23 Studienteilnehmern. Dabei handelte es sich um 5 erfahrene Tumorchirurgen der Hals-Nasen-Ohren-Klinik Rostock. Als „erfahren“ wurden Chirurgen angesehen, welche mehr als 10 Tumoroperationen pro Jahr im Bereich des Oropharynx durchführten. Des Weiteren nahmen 5 Assistenzärzte, ebenfalls aus der Hals-Nasen-Ohren-Klinik Rostock teil. Diese galten als „unerfahren“, da sie weniger als 10 Tumoroperationen pro Jahr eigenständig durchführten. 13 Studenten galten als Laien ohne Operationserfahrung im Bereich der Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde. Vor Beginn wurden die Teilnehmer einer kurzen Einführung unterzogen und gaben ihr schriftliches Einverständnis.

2.2.3 Auswertung der klinischen Pilotstudie

Die Verdachtsdiagnosen der Studienteilnehmer wurden mit den Ergebnissen der histopathologischen Untersuchung verglichen. Ausgewertet werden konnten nur die Verdachtsdiagnosen der 10 Areale, aus denen vorher tatsächlich Proben entnommen worden waren.

Zur statistischen Auswertung wurden die Antwortmöglichkeiten A-C (gesund, Entzündung, Hyperplasie, low-grade, bzw. geringe Dysplasie) als „kontrollbedürftig“ und D-E (moderate Dysplasie, high-grade Dysplasie, CIS, mikroinvasives Karzinom) als „behandlungsbedürftig“ zusammengefasst und in Vierfeldertafeln übertragen (siehe Anhang Tab. 19-24).

2.3 Histopathologische Untersuchung der Biopsien und Resektionsproben

Die Biopsien aus den zuvor mittels OCT und CEM untersuchten Regionen wurden in 4%iger Formaldehydlösung fixiert, in Paraffin eingebettet und vertikal geschnitten. Alle Proben wurden dem Institut für Pathologie der Universität Rostock zur histopathologischen Untersuchung übergeben. Eine Hämatoxylin–Eosin Färbung wurde verwendet. Das Grading der Dysplasien und SIN's erfolgte anhand der WHO-Richtlinien. Eine genauere Beschreibung zur Einteilung der Dysplasiegrade ist in der Einleitung gegeben.

2.4 Bestimmung der Kriterien der diagnostischen Güte

Wurde ein Ergebnis als low-grade Dysplasie, bzw. wie in der klinischen Pilotstudie als „kontrollbedürftig“ eingestuft, so wurde diesem die Zahl 1 zugeordnet. Als high-grade Dysplasie oder „behandlungsbedürftig“ angesehene Läsionen wurden mit der Zahl 2 versehen. Die Ergebnisse der als Goldstandard gesetzten histopathologischen Untersuchung wurden gleichsam aufgeteilt. So konnten die Einstufungen in Vierfeldertafeln eingetragen und die Kriterien der diagnostischen Güte berechnet werden. Tabelle 4 zeigt ein Beispiel einer Vierfeldertafel.

Tab. 4: Beispiel einer Vierfeldertafel

	Histologie			
verwendete Methode		kontrollbedürftig	behandlungsbedürftig	
	kontrollbedürftig	A	B	A+B
	behandlungsbedürftig	C	D	C+D
		A+C	B+D	n

Anhand der vorab erläuterten Vierfeldertafel wurden nachfolgende diagnostische Gütekriterien errechnet:

Sensitivität: Wahrscheinlichkeit, dass durch die verwendete Methode ein laut Histologie malignes Geschehen, auch als dieses eingestuft wird.

$$D/D+B$$

Spezifität: Wahrscheinlichkeit, dass durch die verwendete Methode ein laut Histologie benignes Geschehen, auch als dieses eingestuft wird.

$$A/A+C$$

Positiver Vorhersagewert: Wahrscheinlichkeit, dass ein durch die verwendete Methode als maligne eingestuft Befund, sich auch in der Histologie maligne zeigt.

$$D/D+C$$

Negativer Vorhersagewert: Wahrscheinlichkeit, dass ein durch die verwendete Methode als benigne eingestuft Befund, sich auch in der Histologie benigne zeigt.

$$A/A+B$$

Vorhersagegenauigkeit: Wahrscheinlichkeit, mit der maligne und benigne Befunde durch die verwendete Methode korrekt als maligne oder benigne eingestuft werden.

$$A+D/A+B+C+D$$

Unterdiagnose: Anteil der durch die verwendete Methode als benigne eingestuften malignen Befunde von allen beurteilten Befunden.

$$B/A+B+C+D$$

Überdiagnose: Anteil der durch die verwendete Methode als maligne eingestuften benignen Befunde von allen beurteilten Befunden.

$$C/A+B+C+D$$

Des Weiteren wurden Konfidenzintervalle für Sensitivität, Spezifität, negativen und positiven Vorhersagewert bestimmt.

Die ausgefüllten Vierfeldertafeln befinden sich im Anhang (Tab. 16-24).

2.5 Computersoftware

Für die Text- und Bildverarbeitung wurde Microsoft Office Word verwendet. SPSS 20 wurde für die Berechnung der diagnostischen Gütekriterien benutzt. Die Einstufungen der Läsionen mit Hilfe der verschiedenen Methoden wurden in einer Excel Tabelle aufgelistet. Mit Hilfe des Clinical Calculators 1 wurden die Konfidenzintervalle ermittelt. Zur Erstellung des Literaturverzeichnisses diente Citavi 5.

3 Ergebnisse

Laut histopathologischer Untersuchung zeigten 21 Patienten low-grade Läsionen und 6 Patienten high-grade Läsionen.

3.1 Ergebnisse der Beurteilung der Läsionen mittels Optischer Kohärenztomografie

3.1.1 Messergebnisse der Epithelien der Kontrollgruppe

Die Normaldaten von Wange und Mundboden wurden exemplarisch unter Angabe der Scanparameter in den Anhang (Abb. 39-42) gelegt. Die roten Pfeile markieren die klar erkennbare Grenze zwischen Epithel und subepithelialer Schicht. Diese Grenzschicht wurde zur Epitheldickenmessung herangezogen.

Aus der Kontrollgruppe wurden folgende „normale“ Epitheldicken gemessen: Mundboden 104 μm , Wangenschleimhaut 301 μm , Mundvorhof 197 μm , Zungenrand 212 μm , vorderer Gaumenbogen 120 μm (Tab. 5). Unter Berücksichtigung zahlreicher vorliegender Befunde (Histopathologie verschiedener Epithelveränderungen und dazugehörige OCT-Aufnahmen) wurden folgende Cutoffs zur Unterscheidung zwischen low-grade und high-grade Läsion gesetzt: Mundboden 250 μm , Wangenschleimhaut 350 μm , Mundvorhof 250 μm , Zungenrand 260 μm , vorderer Gaumenbogen 220 μm (Tab. 5).

Tab. 5: Ermittelte Normalwerte der Epitheldicke der Mundhöhle

Anatomische Region	Von uns ermittelte durchschnittliche Epitheldicke (μm) und Standardabweichung	Durchschnittliche publizierte Epitheldicke (μm) (Prestin et al.) und Standardabweichung	Verwendeter Cutoff (μm) zur Differenzierung zwischen low- und high-grade Läsion
Vorderer Mundboden	104 ± 21	99 ± 22	250
Vorderer Gaumenbogen	120 ± 13	124 ± 26	220
Zungenrand	212 ± 14	216 ± 59	260
Wangenschleimhaut	301 ± 17	294 ± 68	350
Mundvorhof	197 ± 14	nicht vorhanden	250

3.1.2 Messergebnisse der Epithelien der Untersucherguppe

Die histopathologischen Untersuchungen zeigten bei 21 Patienten low-grade Läsionen und bei 6 Patienten high-grade Läsionen.

Die Ergebnisse der 33 mittels OCT und Histologie begutachteten Läsionen wurden in eine Vierfeldertafel (Tab. 6) übertragen.

Tab. 6: Ergebnisse der mittels OCT und Histologie begutachteten Läsionen

	Histologie			
		kontrollbedürftig	behandlungsbedürftig	
OCT				
	kontrollbedürftig	19	1	20
	behandlungsbedürftig	5	8	13
		24	9	33

Mit Hilfe dieser Vierfeldertafel wurden die Kriterien der diagnostischen Güte errechnet. Wurden die Läsionen mit Hilfe der OCT begutachtet, als low- bzw. high-grade Läsion eingestuft und mit den Ergebnissen der histopathologischen Untersuchung verglichen, erreichte man eine Sensitivität von 89% (KI 51-99). Die Spezifität war mit 79% (KI 57-92) etwas geringer. Der PPV betrug 62% (KI 32-85), der NPV 95% (KI 73-100). Die Berechnungen erbrachten

eine Vorhersagegenauigkeit von 82%. Insgesamt wurden 15% der Läsionen überdiagnostiziert, der Anteil der Unterdiagnosen war mit lediglich 3% niedrig. Die Ergebnisse wurden in Tabelle 7 zusammengefasst.

Tab. 7: Diagnostische Gütekriterien der OCT

Diagnostisches Gütekriterium	Ergebnis mittels OCT in % (KI 95%)
Sensitivität	89 (KI 51-99)
Spezifität	79 (KI 57-92)
PPV	62 (KI 32-85)
NPV	95 (KI 73-100)
Vorhersagegenauigkeit	82
Unterdiagnose	3
Überdiagnose	15

3.2 Ergebnisse der Beurteilung der Läsionen mittels Konfokaler Endomikroskopie

3.2.1 Messergebnisse der Epithelien der Kontrollgruppe

Die Normaldaten der konfokalen Endomikroskopie wurden als Oberflächenscan und Tiefenscan in 80 µm-Stufen generiert. 80 µm entsprachen hierbei einem manuell ausgelösten Tiefenscan. Die Aufnahmen von der Lippe, des Mundboden, der Wange und der Zunge wurden in den Anhang gelegt (Abb. 28-38).

Zelluläre Strukturen lassen sich an der Lippe bis 200 µm Tiefe darstellen. Die subepithelialen Gefäßloops sind ab 160 µm sichtbar. Die Aufnahmen dienten als Orientierung, ob eine Epithelhyperplasie vorlag. Zudem wurden die Zellarchitektur, wie im Material und Methodenteil beschrieben, beurteilt.

3.2.2 Messergebnisse der Epithelien der Untersucherguppe

Die histopathologischen Untersuchungen zeigten bei 21 Patienten low-grade Läsionen und bei 6 Patienten high-grade Läsionen.

Die Ergebnisse der 33 mittels CEM und Histologie begutachteten Läsionen wurden in eine Vierfeldertafel (Tab. 8) übertragen.

Tab. 8: Ergebnisse der mittels CEM und Histologie begutachteten Läsionen

	Histologie			
		kontrollbedürftig	behandlungsbedürftig	
CEM				
	kontrollbedürftig	20	2	22
	behandlungsbedürftig	4	7	11
		24	9	33

Mit Hilfe dieser Vierfeldertafel wurden die Kriterien der diagnostischen Güte errechnet. Wurden die Läsionen mit Hilfe der CEM begutachtet, als low- bzw. high-grade Läsion eingestuft und mit den Ergebnissen der histopathologischen Untersuchung verglichen, erreichte man eine Sensitivität von 78% (KI 40-96). Die Spezifität liegt hier nun höher mit 83% (KI 62-95). Der PPV betrug 64% (KI 32-88), der NPV 91% (KI 69-98). Die Berechnungen erbrachten erneut eine Vorhersagegenauigkeit von 82%. Insgesamt wurden 12% der Läsionen überdiagnostiziert, der Anteil der Unterdiagnosen betrug 6%. Die Ergebnisse wurden in Tabelle 9 zusammengefasst.

Tab. 9: Diagnostische Gütekriterien der CEM

Diagnostisches Gütekriterium	Ergebnis mittels CEM in % (KI 95%)	
Sensitivität	78	(KI 40-96)
Spezifität	83	(KI 62-95)
PPV	64	(KI 32-88)
NPV	91	(KI 69-98)
Vorhersagegenauigkeit	82	
Unterdiagnose	6	
Überdiagnose	12	

3.3 Ergebnisse der Beurteilung der Läsionen mit Hilfe der Kombination beider Verfahren (OCT und CEM)

Die Ergebnisse der 33 mittels CEM in Kombination mit der OCT und Histologie begutachteten Läsionen wurden in eine Vierfeldertafel (Tab. 10) übertragen.

Tab. 10: Ergebnisse der mittels CEM und OCT und Histologie begutachteten Läsionen

	Histologie			
		kontrollbedürftig	behandlungsbedürftig	
OCT und CEM	kontrollbedürftig	18	0	18
	behandlungsbedürftig	6	9	15
		24	9	33

Mit Hilfe dieser Vierfeldertafel wurden die Kriterien der diagnostischen Güte errechnet. Wurden die Läsionen mit Hilfe beider Untersuchungsmethoden, also mit OCT und CEM begutachtet, als low- bzw. high-grade Läsion eingestuft und mit den Ergebnissen der histopathologischen Untersuchung verglichen, erreichte man eine Sensitivität von 100% (KI 63-100). Die Spezifität liegt hier bei 75% (KI 53-89). Der PPV betrug 60% (KI 33-83), der NPV 100% (KI 78-100). Die Berechnungen erbrachten wiederum eine Vorhersagegenauigkeit von 82%. Insgesamt wurden 18% der Läsionen überdiagnostiziert. Eine unterdiagnostizierte Läsion gab es nach der Kombination von OCT und CEM nicht mehr. Die Ergebnisse wurden in Tabelle 11 zusammengefasst.

Tab. 11: Diagnostische Gütekriterien von OCT und CEM

Diagnostisches Gütekriterium	Ergebnis mittels CEM und OCT in % (KI 95%)	
Sensitivität	100	(KI 63-100)
Spezifität	75	(KI 53-89)
PPV	60	(KI 33-83)
NPV	100	(KI 78-100)
Vorhersagegenauigkeit	82	
Unterdiagnose	0	
Überdiagnose	18	

3.4 Tabellarische Zusammenfassung der Ergebnisse

Die Ergebnisse der mittels OCT, CEM und beider Methoden betrachteten Läsionen im Vergleich zum Ergebnis der histopathologischen Untersuchung wurden in Tabelle 12 zusammengefasst.

Tab. 12: Zusammenfassung der diagnostischen Gütekriterien von OCT, CEM und der Kombination beider Methoden

	OCT	CEM	OCT + CEM
Sensitivität	89%	78%	100%
Spezifität	79%	83%	75%
PPV	62%	64%	60%
NPV	95%	91%	100%
Vorhersagegenauigkeit	82%	82%	82%
Unterdiagnose	3%	6%	0%
Überdiagnose	15%	12%	18%

3.5 Ergebnisse der klinischen Pilotstudie zur blickdiagnostischen Beurteilung der Läsionen

Tab. 13: Ergebnisse der Verdachtsdiagnosen der Studienteilnehmer für die gesamte Läsion

	Tumorchirurgen	Assistenzärzte	Studenten
Sensitivität	80% (KI 44-96%)	30% (KI 8-65%)	77% (KI 56-90%)
Spezifität	53% (KI 27-78%)	80% (KI 51-95%)	82% (KI 66-92%)
PPV	53% (KI 27-78%)	50% (KI 53-88%)	74% (KI 53-88%)
NPV	80% (KI 44-96%)	63% (KI 39-83%)	84% (KI 68-93%)
Vorhersagegenauigkeit	64%	60%	80%
Unterdiagnose	8%	28%	9%
Überdiagnose	28%	12%	11%

Tab. 14: Ergebnisse der Verdachtsdiagnosen der Studienteilnehmer für die gewählten Areale

	Tumorchirurgen	Assistenzärzte	Studenten
Sensitivität	89% (KI 64-98%)	25% (KI 8-53%)	61% (KI 42-76%)
Spezifität	63% (KI 42-80%)	88% (KI 68-97%)	85% (KI 73-93%)
PPV	62% (KI 41-79%)	57% (KI 20-88%)	71% (KI 51-86%)
NPV	89% (KI 65-98%)	66% (KI 48-80%)	78% (KI 65-88%)
Vorhersagegenauigkeit	73%	64%	76%
Unterdiagnose	4%	29%	15%
Überdiagnose	22%	7%	9%

Die Tumorchirurgen erreichten Sensitivitäten von 80% bei der Verdachtsdiagnose für die gesamte Läsion, bzw. 89% bei der Verdachtsdiagnose für die gewählten Areale. Die Assistenzärzte stehen diesem Ergebnis mit Sensitivitäten von 30% und 25% gegenüber.

Dieser Unterschied spiegelt sich auch in den Spezifitäten wieder. Hier erreichten die Tumorchirurgen 63%, die Assistenzärzte 88%, was allerdings mit einer Unterdiagnose von 29% einherging. Lediglich 4% der gewählten Areale wurden von den Tumorchirurgen unterdiagnostiziert, überdiagnostiziert 22%. Mit 73% erzielten die Tumorchirurgen eine etwas höhere Vorhersagegenauigkeit als die Assistenzärzte. Generell wählten die Tumorchirurgen wesentlich häufiger die Diagnose „behandlungsbedürftig“ als die Assistenzärzte. Dem gegenüber

erreichten die Studenten eine höhere Vorhersagegenauigkeit, allerdings auch einen höheren Prozentsatz an Unterdiagnostizierten und eine geringere Sensitivität als die Tumorchirurgen.

3.6 OCT- und CEM-Aufnahmen verschiedener Schweregrade (Beispiele)

Im Anschluss werden Beispiele verschiedener Läsionen, die im Rahmen der Promotionsarbeit untersucht wurden, mit den entsprechenden Bilddaten aufgeführt. Es handelt sich um willkürlich aus den umfangreichen Bilddaten herausgesuchte Aufnahmen.

3.6.1 Benigne Veränderungen

Das erste Bild zeigt klinisch eine Leukoplakie der Wangenschleimhaut (Abb. 18). Die weißen Beläge sind deutlich sichtbar. Im OCT-Bild sieht man einen durchgehenden Gewebeverband. Die Grenze zwischen Epithel und subepithelialer Schicht wird durch die Intensitätsunterschiede deutlich. Die Abstufung der Intensitäten gilt als Korrelat der Basalmembran. Diese ist in dem Bild durch rote Pfeile markiert und nicht durchbrochen. Die Epithelschicht erscheint in der Aufnahme verdickt. Histologisch handelt es sich um eine Hyperkeratose und eine einfache Leukoplakie.

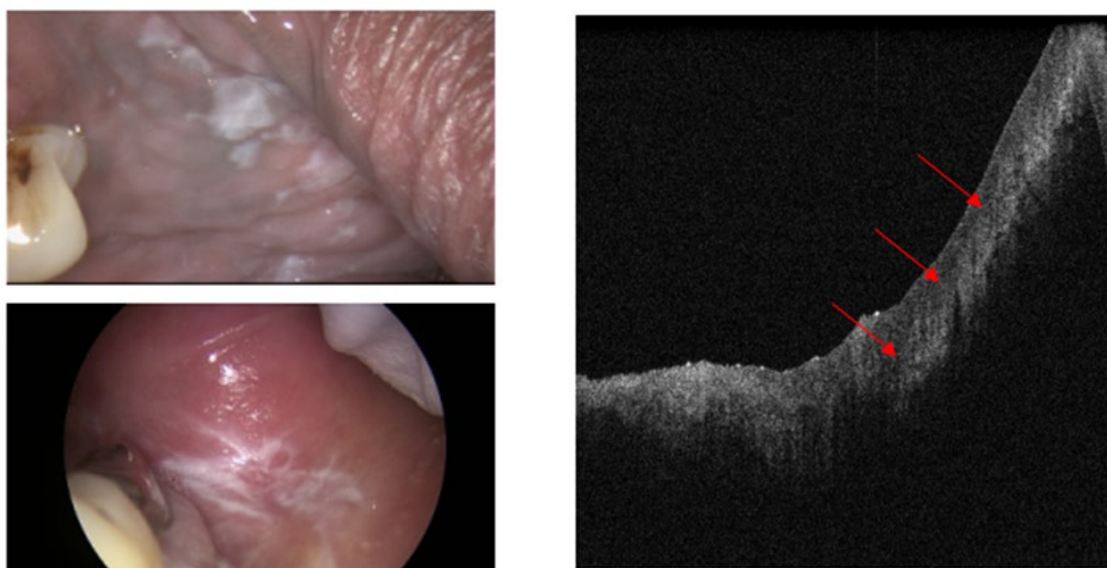


Abb. 18: Klinische Leukoplakien der Wangenschleimhaut mit Lichenifikation und dazugehörige OCT-Aufnahme. Histopathologisch handelt es sich um eine Hyperkeratose und eine einfache Leukoplakie. Die OCT-Aufnahme zeigt, im Vergleich zum gesunden Epithel, eine dickere Epithelschicht. Die roten Pfeile markieren die Grenze zwischen Epithel und subepithelialer Schicht (bis maximal 250 μm).

Bei den folgenden CEM-Aufnahmen handelt es sich um dieselbe benigne Läsion. Man sieht Verdichtungen im Epithel, die als weiße Strukturen hervortreten (Abb. 19). Sonst ist das Zellbild regelrecht. Die Zellgrenzen sind klar sichtbar und jede Zelle enthält einen Zellkern. Zelltypen sind nicht zu sehen (Abb. 20).

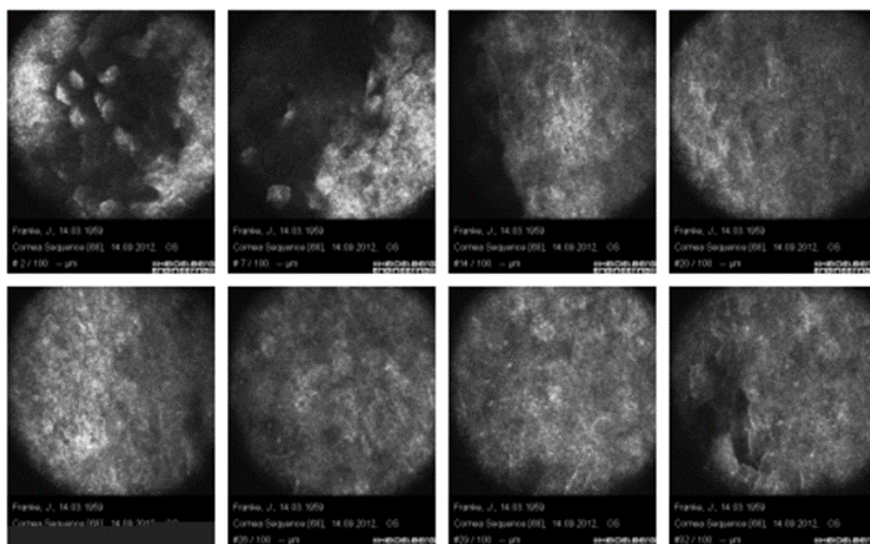


Abb. 19: CEM-Aufnahmen der klinischen Leukoplakie der Wangenschleimhaut im Oberflächenscan.
Diese zeigen normale Epithelzellen ohne Zellatypien im Oberflächenscan.

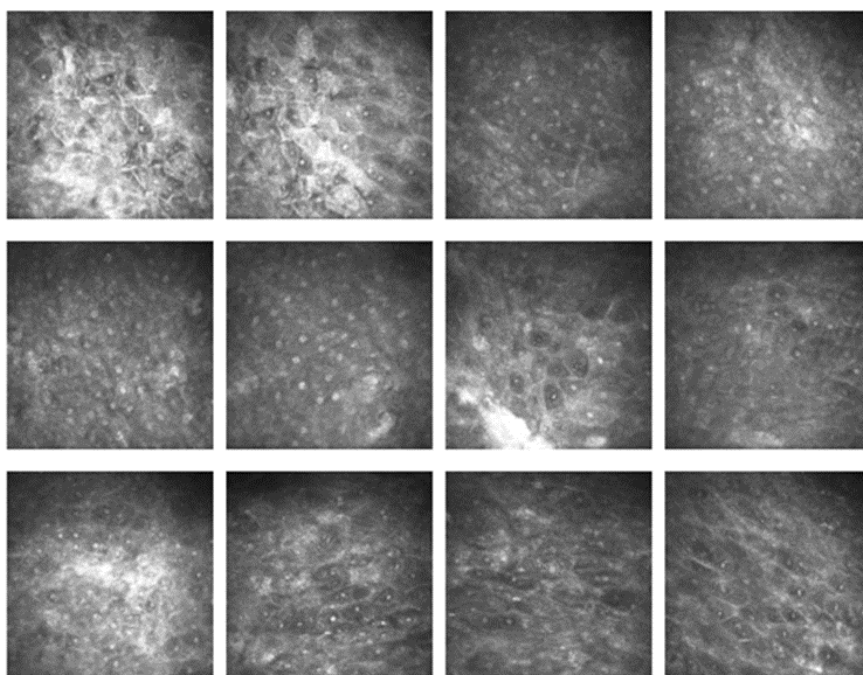


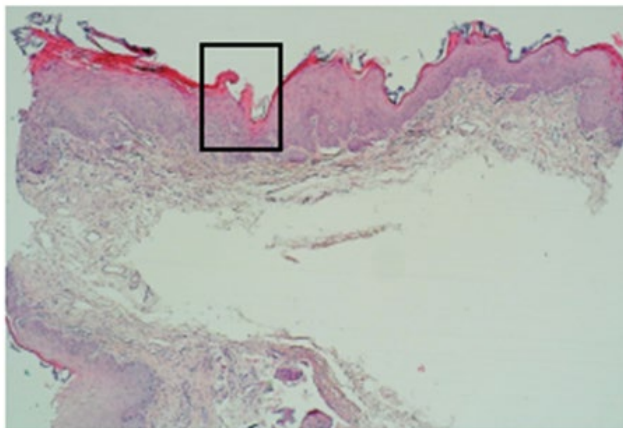
Abb. 20: CEM-Aufnahmen der klinischen Leukoplakie der Wangenschleimhaut im Tiefenscan.
Diese zeigen normale Epithelzellen ohne Zellatypien im Tiefenscan bis 80 µm.

3.6.2 Dysplastisches Epithel

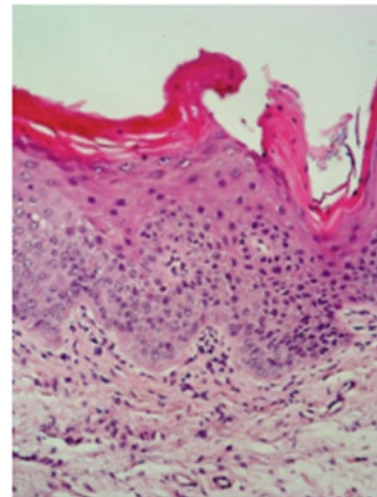
Das folgende Bild zeigt wiederum eine Leukoplakie des Mundbodens (Abb. 21A). Darunter ist das dazugehörige histologische Bild dargestellt (Abb. 21B, C). Es handelt sich um eine mittelgradige Dysplasie. Die Regularität der Zellarchitektur ist aufgehoben. Die Veränderungen reichen bis in das mittlere Epitheldrittel.



A



B



C

Abb. 21: Beispiel einer Leukoplakie des vorderen Mundbodens und dazugehörige histologische Abbildung.
Beispiel einer Leukoplakie des vorderen Mundbodens (A), die histologisch einer mittelgradigen Dysplasie entspricht (B und C).

Hierunter sind dieselbe Läsion und das dazugehörige OCT-Bild dargestellt (Abb. 22). Die roten Pfeile markieren den Übergang zwischen dem keratotischen und dem nicht-

keratotischen Bereich des dysplastischen Epithels, welcher deutlich zu sehen ist (Abb. 23). Das Epithel im Bereich der nicht-keratotischen Dysplasie ist im Vergleich zum keratotischen Gewebe verdünnt. Während die Epitheldicke des ersten Bereichs deutlich über dem Cutoff von 250 μm liegt, sind es im keratotischen Bereich nur 150 μm . Auch zu bemerken ist, dass die Hyperkeratose die Eindringtiefe der OCT einschränkt.



Abb. 22: Fotografie einer Leukoplakie des vorderen Mundbodens und OCT-Volumenscan der Läsion.

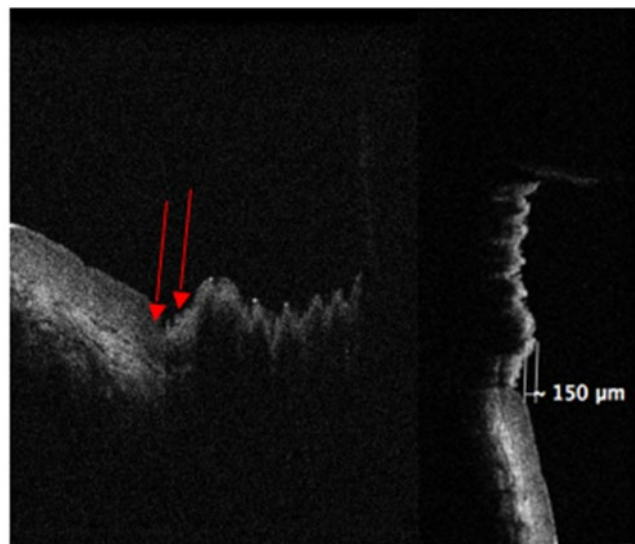


Abb. 23: OCT-Aufnahme der Leukoplakie des vorderen Mundbodens. OCT Aufnahme mit Übergang vom keratotischen zum nicht-keratotischen dysplastischen Epithel. Die deutlich über dem Cutoff von 250 μm liegende Epitheldicke verringert sich im keratotischen Bereich auf 150 μm .

Konfokalmikroskopisch sind dysplastische Zellen sichtbar. Diese sind durch die weißen Pfeile markiert (Abb. 24). Die Zellgrenzen sind nicht klar zu erkennen. Die Zellkerne sind vergrößert und die Kern-Plasma-Relation ist zu Gunsten des Zellkerns verschoben. Zudem sind die Zellen z.T. hyperchrom, was durch den starken Intensitätsanstieg sichtbar wird.

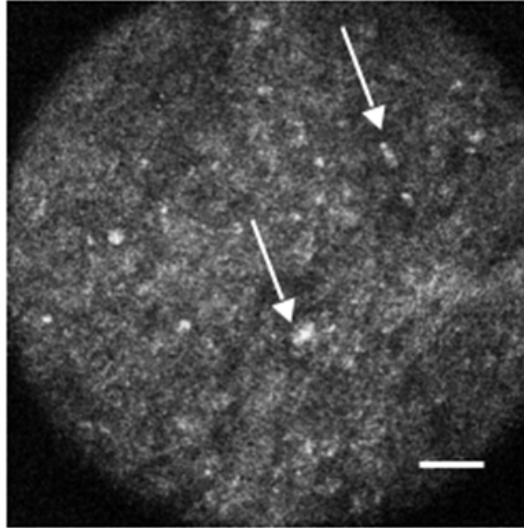


Abb. 24: CEM-Aufnahme der Leukoplakie des vorderen Mundbodens. Konfokalmikroskopisch lassen sich dysplastische Zellen (weiße Pfeile) bis in etwa 110 μm Tiefe nachweisen.

3.6.3 CIS/mikroinvasives Karzinom

An dieser Stelle ist das klinische Bild einer weiteren schwer einzuschätzenden Läsion der Mundhöhle (roter Pfeil) dargestellt (Abb. 25). Histologisch handelt es sich hierbei um ein mikroinvasives Karzinom.

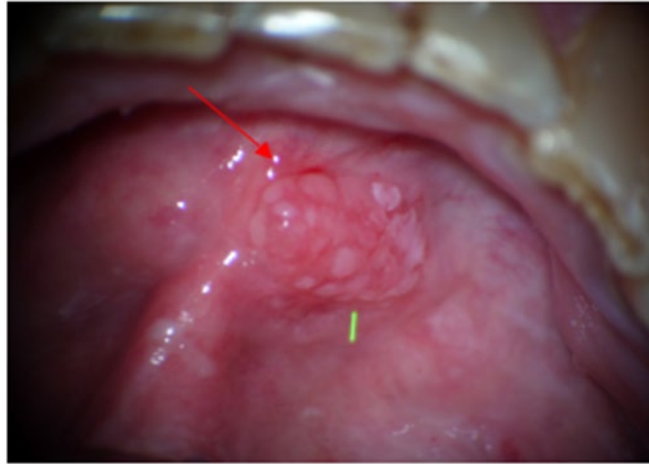


Abb. 25: Klinisches Bild eines mikroinvasiven Karzinoms des Mundbodens.
Das klinische Bild eines mikroinvasiven Karzinoms ist hier abgebildet. Der grüne Pilotstrahl zeigt die Scanrichtung.

In Abb. 25 ist der grüne Pilotstrahl zu sehen. An dieser Stelle erfolgte die OCT-Aufnahme, welche unten dargestellt ist (Abb. 26). Darin ist die Gewebsarchitektur aufgehoben. Das Epithel lässt sich nicht mehr vom subepithelialen Bereich abgrenzen und die Epitheldicke ist somit nicht mehr zuverlässig bestimmbar. Demzufolge ist die Basalmembran durchbrochen, ein Zeichen der Invasivität dieser Läsion. Der rote Pfeil zeigt einen regelrechten Einschnitt in das Gewebe.

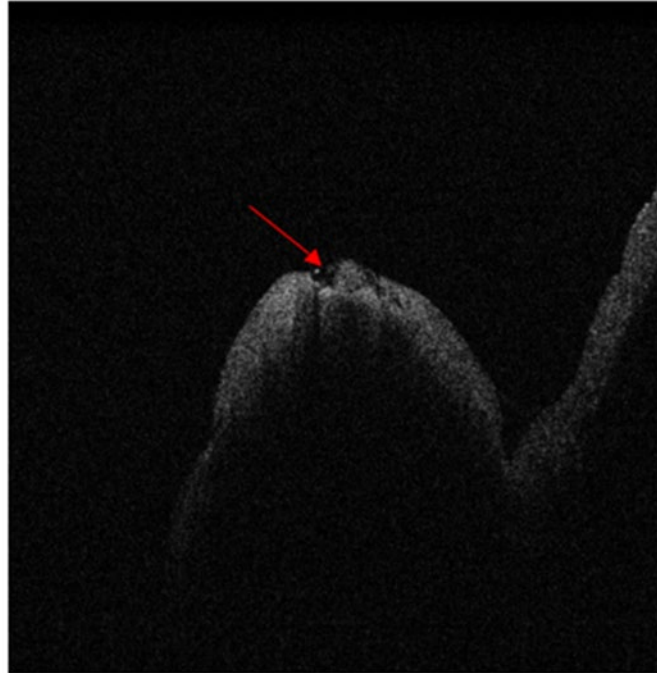


Abb. 26: OCT-Aufnahme des mikroinvasiven Karzinoms des Mundbodens. Die Epitheldicke kann mit der OCT nicht mehr zuverlässig erfasst werden. Lediglich die im vorderen Bereich der Läsion gelegene Fissur lässt sich zur Orientierung zuordnen.

Das folgende Bild zeigt die CEM-Aufnahmen aus 10 μm , 20 μm , 40 μm und 60 μm Tiefe (Abb. 27). Deutlich sind dysplastische Zellen in allen 4 Bildern zu sehen (rote Pfeile). Zellgrenzen sind kaum auffindig zu machen. Die Zellkerne sind stark vergrößert und die Zellen hyperchrom, als Zeichen einer gesteigerten Zellaktivität – und teilung. Die Abnormitäten reichen über die gesamte Dicke der Läsion.

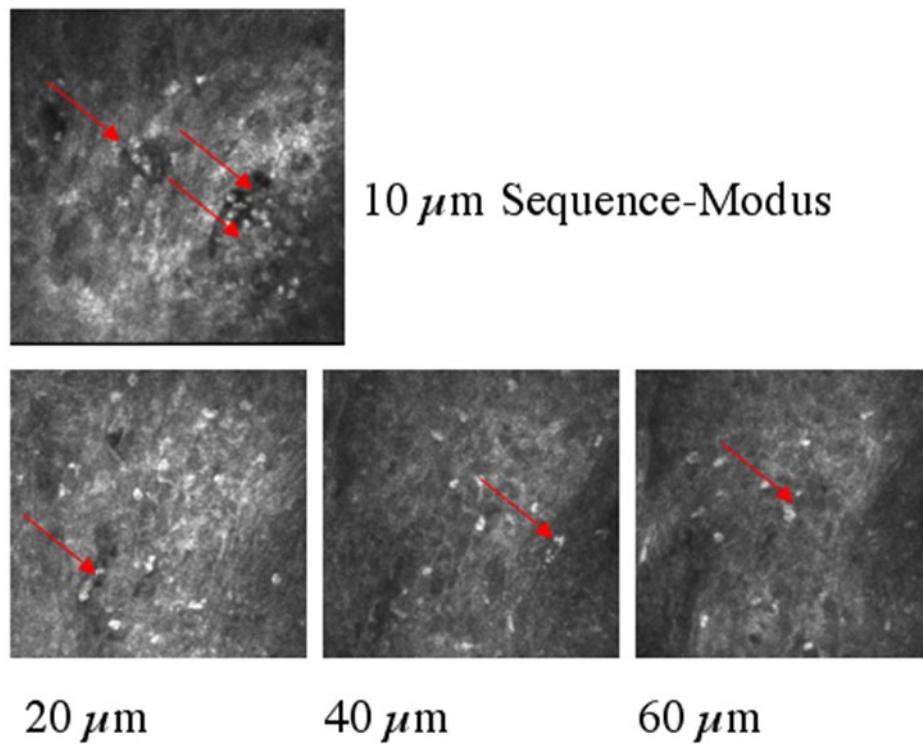


Abb. 27: CEM-Aufnahmen des mikroinvasiven Karzinoms des Mundbodens. In den gezeigten CEM-Aufnahmen sind die dysplastischen Zellen in ausgesuchten Aufnahmen bis etwa 60 μm nachweisbar (rote Pfeile).

4 Diskussion

4.1 Vorgehen nach Leitlinie bei Läsionen der Mundhöhle

Die frühe Diagnose des oralen Plattenepithelkarzinoms ist essentiell für das Outcome der Patienten (Neville et al. 2002). Da das Wachstum von Präkanzerosen symptomarm und unspezifisch ablaufen kann, wird in der Leitlinie „Diagnostik und Management von Vorläuferläsionen des oralen Plattenepithelkarzinoms in der Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde“ die Abklärung aller über 2 Wochen bestehenden unklaren Schleimhautveränderungen ohne Heilungstendenz empfohlen. Der Untersucher beurteilt die Läsion anhand der Anamnese, des Tastbefundes, der Makroskopie, der Weißlichtmikroskopie und ggf. der intraoralen Sonografie. Bei klinisch eindeutig malignomsuspekten oder völlig unauffälligen Läsionen ist das Vorgehen laut der o.g. Leitlinie klar. Erstere werden biopsiert und einer histopathologischen Untersuchung zugeführt. Bei Letzteren genügt die Verlaufskontrolle. Besteht aber eine Restunsicherheit seitens des Untersuchers bei eher unauffälligen Befunden, so sollte laut Leitlinie die Bürstenbiopsie durchgeführt werden. Mit dieser Methode werden Zellen aus mittleren und tieferen Epithelschichten entnommen und zytologisch ausgewertet. Finden sich dort Hinweise auf Dysplasien, so sollte die Läsion laut Leitlinie wiederum biopsiert werden. Allerdings schwanken die Angaben zur Sensitivität der Bürstenbiopsie zwischen 71% und 91%, die der Spezifität sogar zwischen 32% und 91% (Poate et al. 2004), (Remmerbach et al. 2004).

Sciubba führte 1999 eine der ersten großen Multizenterstudien zu diesem Thema durch. Es wurden für die Bürstenbiopsie zur Detektion von Dysplasien und Malignomen diagnostische Gütekriterien zwischen 90% und 100% erreicht. Malignomsuspekte Befunde wurden mittels Bürstenbiopsie untersucht und anschließend erfolgte die histopathologische Untersuchung dieser Läsionen. Allerdings wurden Patienten mit unauffälligen Befunden und bestehender Restunsicherheit nur mit der Bürstenbiopsie untersucht. Es fand nur bei einem sehr kleinen Teil dieser Patientengruppe der Vergleich mit der Histopathologie statt. Da es aber gerade diese Patientengruppe ist, die die Leitlinie für die Bürstenbiopsie vorsieht, besteht hier ein deutliches Defizit dieser Studie.

Driemel et al. vollzogen 2008 ebenfalls eine Studie zur klinischen Wertigkeit der Bürstenbiopsie. 169 Patienten mit Läsionen der Mundschleimhaut wurden mittels Bürstenbiopsie und Histologie untersucht. Fanden sich in der zytologischen Aufarbeitung der Bürstenbiopsie keine pathologischen Zellen, galten diese als tumornegativ. Fanden sich pathologische Zellen oder galt das Ergebnis als unklar, so galt die Zytologie als tumorpositiv. Diese Ergebnis-

se wurden anschließend mit denen der histopathologischen Untersuchung verglichen. So wurde für die Bürstenbiopsie eine Sensitivität von 79% und eine Spezifität von 93% erreicht. Kritisch hierbei ist das gewählte Patientengut. Es waren Patienten ausgewählt worden, bei denen eine Überprüfung mittels Biopsie nötig war, eben um die Ergebnisse der Bürstenbiopsie mit der Histopathologie als Goldstandard vergleichen zu können. Doch die Bürstenbiopsie ist laut o.g. Leitlinie nicht für dieses Patientengut vorgesehen, sondern für Patienten mit klinisch unauffälligen Befunden mit bestehender Restunsicherheit seitens des Untersuchers.

Laut Lingen et al. ist die Beurteilung der klinischen Wertigkeit der Bürstenbiopsie unklar. Hierfür müssten Patienten mit klinisch unauffälligen Befunden bei bestehender Restunsicherheit seitens des Untersuchers mittels Bürstenbiopsie und mittels Histologie begutachtet werden, so dass die passende Patientengruppe besteht und die Histologie als Goldstandard zum Vergleich dienen kann. Zu diesem Thema fehlt eine große Multizenterstudie (Lingen et al. 2008).

4.2 Kombination von OCT und CEM

In der vorliegenden Arbeit wurde überprüft, welche diagnostische Wertigkeit die OCT und die CEM bei der Einschätzung von klinisch schwer zu beurteilbaren Läsionen der Mundhöhle erreichen. Des Weiteren wurde die OCT als vertikales Verfahren mit der CEM als horizontales Verfahren in Kombination betrachtet. Beides sind non-invasive in vivo Methoden, um Bilder der Gewebs- und Zellmorphologie in Echtzeit zu erstellen.

Im Falle der OCT unterscheidet man die TD-OCT (time domain-OCT) von der FD-OCT (frequency domain-OCT). Bei der TD-OCT wird die Länge des Referenzarmes verändert und die Intensität der Referenz kontinuierlich gemessen. Die FD-OCT erfasst die Interferenz der einzelnen spektralen Komponenten (Liu et al. 2007). Während die TD-OCT stets die Gesamtlänge des Referenz- und des Probenstrahls aufnehmen muss, ist die FD-OCT in der Lage sich auf den Interferenzanteil zu fokussieren. Daraus resultiert eine höhere Bildqualität. Zu der FD-OCT gehören die SS-OCT (swept source-OCT) und die SD-OCT (spectral domain-OCT). Erstere nimmt die einzelnen spektralen Komponenten zeitlich nacheinander auf, Letztere misst das Spektrum der interferierenden Strahlung mit Hilfe eines Spektrometers (Kang et al. 2013). In dieser Arbeit wurde die SD-OCT verwendet.

Die CEM fokussiert Laserlicht auf einen Punkt des Objektes. Das von dort reflektierte Licht gelangt durch eine Lochblende zu einem Detektor. Licht, welches von ober- oder unterhalb der Fokusebene reflektiert wird, wird durch die Lochblende aufgehalten und nicht detektiert (Semwogerere et al. 2005).

Aufgrund der unterschiedlichen Fähigkeiten von OCT und CEM ist eine Kombination beider Verfahren sinnvoll: Die Penetrationstiefe der OCT beträgt 4,2 mm. Die axiale Auflösung beträgt 7,5 μm und die laterale Auflösung 23 μm . Die CEM erreicht Eindringtiefen zwischen 100 und 300 μm , eine axiale Auflösung von 2 μm und eine laterale Auflösung von 1-2 μm .

Die OCT bietet also die größere Penetrationstiefe, die CEM die höhere Auflösung. Zudem zeigt die OCT das Gewebe im Querschnitt. So können vor allem die Epitheldicke und die Integrität der Basalmembran bestimmt werden. Die CEM erzeugt horizontale Schnitte. Durch die Volumenscans kann der Betrachter die einzelnen Zellschichten mit nur 2 μm Abstand begutachten. Dank der hohen Auflösung können histologische Kriterien, wie die Morphologie der Zellen und Zellverbände, die Kern-Plasma-Relation, das Vorhandensein doppelkerniger oder atypischer Zellen, die Zellverbindungen und Hyperkeratosen, zur Beurteilung herangezogen werden. Da die Schichttiefe des jeweiligen Bildes bekannt ist, lässt sich auch einschätzen, in welcher Schicht die Atypien liegen. Somit kann der Schweregrad der Dysplasie eingeschätzt werden. Demnach ergänzen sich die Eigenschaften beider Verfahren. Es ist daher sinnvoll, beide Methoden in ihrer Kombination zu betrachten und anzuwenden.

Das Ziel dieser Arbeit war, die Bedeutung der OCT und der CEM in der Diagnostik von prä-malignen Läsionen der Mundhöhle zu eruieren.

Mittels OCT wurden 89% der high-grade Läsionen auch als solche erkannt. Die Sensitivität der CEM liegt mit 78% deutlich niedriger. Lag eine low-grade Läsion vor, wurde diese mittels OCT in 79% und mittels CEM in 83% der Fälle korrekt eingestuft. PPV und NPV liegen mit 62% und 95% (OCT) bzw. 64% und 91% (CEM) nah beieinander. Wurde also eine Läsion durch OCT oder CEM als low-grade Läsion beurteilt, entsprach dies in über 90% auch dem Ergebnis der histopathologischen Untersuchung. Doch wurde die Läsion durch OCT oder CEM als high-grade Läsion eingestuft, so entsprach dies in nur knapp über 60% der Läsionen auch der Histologie. Unterdiagnostiziert wurden nur 3-6% der Patienten. Der Anteil der überdiagnostizierten Läsionen war mit 12-15% allerdings relativ hoch.

Wurden OCT und CEM in Kombination gesehen, so wurde eine Läsion als high-grade Läsion eingestuft, sobald eines der Verfahren diese als high-grade Läsion beurteilt hatte. Nur Läsionen, die sowohl mittels OCT als auch mittels CEM für eine low-grade Läsion gehalten wurden, gingen auch als solche in die Bewertung ein. Dies führte dazu, dass keine Läsion mehr als low-grade Läsion eingestuft wurde, obwohl sie laut Histologie eine high-grade Läsion war. Somit lag die Sensitivität bei 100% und keiner der Patienten wurde unterdiagnostiziert. Diese Verschiebung hatte allerdings auch eine verminderte Spezifität von 75% und eine hohe Überdiagnoserate von 18% zur Folge. Die Vorhersagegenauigkeit änderte sich nicht und betrug bei der OCT, bei der CEM und bei der Kombination beider Verfahren 82%. Entsprechend wurden von 33 Läsionen 27 korrekt beurteilt.

In den Ergebnissen wird das hohe Potenzial der beiden Verfahren ersichtlich. Wurden OCT und CEM kombiniert, wurde keine high-grade Läsion übersehen. Die Verfahren sollen nicht die Histologie als Goldstandard ersetzen. Sie sollen dem Untersucher die Entscheidung erleichtern, ob eine Läsion kontrolliert werden kann oder biopsiert werden muss. Demnach hätten die 18% Überdiagnose bedeutet, dass 6 von 33 Läsionen biopsiert worden wären und die Histologie eine low-grade Läsion ergeben hätte. Die Folge der Überdiagnose wäre also keine unnötige Therapie, sondern die Abklärung mittels Biopsie. Natürlich können orale Biopsien schmerzvoll und bezüglich der Nahrungsaufnahme und des Sprechverhaltens einschränkend sein (García-Hernández et al. 2013). Daher wäre eine Minimierung der Rate an Überdiagnosen von Vorteil für den Patienten.

Aus der intraoperativen Anwendung beider Verfahren ergaben sich keine Probleme. Beide Geräte sind nach kurzer Einarbeitung einfach zu handhaben. Die Operationszeit verlängerte sich um 5- 10 min. Komplikationen resultierten daraus nicht. Die Methoden sind also in vivo anwendbar. Eine wichtige Problematik bei der CEM bestand darin, dass diese im Kontaktverfahren verwendet wird. Eine konkave Aussparung am Endoskopende soll das Gewebe vor zu starker Komprimierung schützen. Allerdings konnte eine geringe Gewebekompression und somit Verschiebung der Basalzellschichtebene sowie eine Fehlinterpretation des Dysplasiegrades nicht in jedem Fall sicher ausgeschlossen werden.

4.3 Einteilung der Dysplasiegrade

Die WHO teilt die Läsionen der Mundhöhle histologisch in eine Hyperplasie, eine leichte, moderate oder schwere Dysplasie und das Carcinoma in situ ein. Parallel findet die Einteilung in squamöse intraepitheliale Neoplasien statt (SIN I-III). SIN I und II entsprechen in ihren Kriterien der leichten, bzw. moderaten Dysplasie. Die SIN III umfasst die schwere Dysplasie und das Carcinoma in situ. Von einigen Autoren wird ein binäres System befürwortet. So evaluierten Kujan et al. 2006 die Reproduzierbarkeit eines binären Systems, welches orale epitheliale Dysplasien in low- und high-grade SIN's unterteilt. Die Autoren bezeichneten Läsionen mit weniger als 4 architektonischen und weniger als 5 zytologischen Veränderungen als low-grade SIN. Waren mehr Veränderungen zu sehen, so galt die Probe als high-grade SIN. Laut der Autoren könnte dieses System zu mehr adäquaten Therapieentscheidungen des Klinikern führen. Dies gilt vor allem für die (laut WHO) moderate Dysplasie. Doch dieser Nutzen wird in der Literatur kontrovers diskutiert (Nankivell et al. 2013). 2016 stellten Krishna et al. eine geringere Intra- und Interobservervariabilität im Vergleich zu der WHO Einteilung fest, was wiederum für das binäre System spricht.

In dieser Arbeit wurden die histologisch untersuchten Proben durch die Pathologie anhand der WHO Einteilung beurteilt. Es ging hier vor allem um die Frage, ob OCT und CEM dem Untersucher die Entscheidung zwischen einer zu beobachtenden Läsion und einer nötigen Biopsie erleichtern. Es sollte also eine Differenzierung zwischen kontroll- und behandlungsbedürftigen Läsionen stattfinden.

Laut der Leitlinie „Diagnostik und Management von Vorläuferläsionen des oralen Plattenepithelkarzinoms in der Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde“ soll eine SIN I beobachtet und eine SIN II oder III histologisch untersucht werden. Somit sollte mittels OCT und CEM zwischen einer SIN I und SIN II/III unterschieden werden. In diesem Sinne wurden in dieser Arbeit die Läsionen in low-grade und high-grade Dysplasien unterteilt. Unsere Unterteilung kommt also dem von Kujan et al. befürworteten binärem System nahe. Sie entspricht diesem aber nicht völlig, da sich nicht nach den oben genannten Kriterien gerichtet wurde.

4.4 Diskussion der klinischen Wertigkeit der OCT

Durch die vielversprechenden Eigenschaften der OCT befassten sich bereits einige Autoren mit deren Nutzen bei der Detektion und Differenzierung von Karzinomen und deren Vorläuferläsionen im Kopf-Hals-Bereich:

2009 führten Jerjes et al. eine ex vivo Studie an 27 Patienten mit oralen Läsionen durch. Die entnommenen Proben besagter Läsionen wurden mittels swept source-OCT (SS-OCT) von 2 verblindeten Untersuchern besehen und anschließend mit den Ergebnissen der histopathologischen Untersuchung verglichen. Die Untersucher sollten auf architektonische Veränderungen achten und mitteilen, ob sie, aufgrund der OCT-Bilder, eine Biopsie empfohlen hätten. Bei histologisch normalem Gewebe, Zysten und fibroepithelialen Polypen wäre keine Biopsie empfohlen worden. Bei allen anderen Läsionen hingegen schon, einschließlich Hyperkeratosen und Entzündungen. Die OCT konnte also erkranktes Gewebe erkennen, aber die verschiedenen Erkrankungen nicht voneinander differenzieren.

Hamdoon et al. erweiterten 2012 das Studiendesign von Jerjes et al., um normale und pathologische OCT-Daten zu generieren. Es wurden 78 orale Läsionen aus 73 Patienten biopsiert bzw. exziiert. Diese stammten vor allem aus Bereichen der Zunge (30), der Wange (20) und des Mundbodens (13). Die Proben wurden ex vivo mittels OCT untersucht und anschließend der histopathologischen Bearbeitung unterzogen. Die histologischen Präparate wurden mit den OCT-Bildern verglichen. Es wurden 5 Strukturen beurteilt: die Keratinzellschicht, die epitheliale Schicht, die Basalmembran, die Lamina propria und mikroanatomische Strukturen. Die OCT korrelierte sehr gut mit der Histologie bei der Einschätzung der Basalmembran

(97%), des Epithels und seiner Veränderungen (93,5%), sowie der Keratinzellschicht und ihrer Veränderungen (94%). Die Beurteilung von epithelialen Bindegewebszapfen korrelierte zu 89% mit der Histologie, bei Blutgefäßen und Drüsengängen sank die Korrelation auf 77% bzw. 60%. Die Autoren beschrieben, wie sich die einzelnen Strukturen auf den OCT-Bildern darstellten. Die wichtigsten Merkmale der jeweiligen Gewebeschichten sind in Tab. 15 zusammengefasst. Die so von den Autoren herausgearbeiteten Diagnosekriterien lauten wie folgt: Das Vorhandensein der einzelnen Schichten und deren Homogenität deuten auf normales Gewebe hin. Pathologisches Gewebe zeigt sich durch eine erhöhte Epitheldicke und eine unorganisierte Keratinschicht. Allerdings sind die einzelnen Epitheldicken nicht angegeben wurden. Die Autoren erläuterten nicht, ab wann ein Epithel als „verdickt“ galt. Somit erfolgte die Angabe der Epitheldicke rein deskriptiv (erhöht oder nicht erhöht). Im Falle eines invasiven Karzinoms beschrieben die Autoren die durchbrochene Basalmembran und die Architektur der Lamina propria präsentierte sich irregulär. Die Epitheldicke war durch die Invasion deutlich erhöht und die Keratinschicht wies eine Hyporeflexion auf.

Tab. 15: Beschreibung der Gewebsstrukturen in den OCT-Aufnahmen nach Hamdoon et al. 2012.
Die grün unterlegten Bereiche stellen laut Hamdoon et al. die wichtigsten Diagnosekriterien mittels OCT dar (Tabelle von den Autoren dieser Arbeit erstellt).

	Normales Gewebe	Benigne Läsion	Dysplastisches Gewebe	Karzinom
Keratinzellschicht	dünne helle Linie, der epithelialen Schicht aufgelagert, fehlt bei unverhorntem Epithel	Hyperreflexion bei Hyperkeratose	milde/moderate Dysplasie: Hyperreflexion schwere Dysplasie und CIS: Hyporeflexion oder Fehlen der Keratinschicht durch strukturellen Schaden / Ulzeration	siehe Dysplasie
Epithel	niedrigere Signalintensität als Keratinzellschicht, homogene Struktur, Signalunterschied zwischen spinozellulärer und Granulosa zellschicht	ansteigende Epitheldicke (v.a. bei Hyperplasien)	erhöhte Epitheldicke, strukturelle Veränderungen bei schweren Dysplasien und CIS	Epitheldicke steigt wegen der Invasion stark an, Inhomogenität
Basalmembran	Entspricht der Demarkation zwischen den beiden verschiedenen Signalintensitäten zwischen Epithel und Lamina propria	intakt	intakt	Basalmembranverlust
Lamina propria	Demarkation vom darüber liegenden signalintensiven Epithel			Irreguläre Architektur

Die Autoren kamen zu dem Schluss, dass die OCT Invasivität gut darstellen kann. Auch kann die OCT normales von pathologischem Gewebe unterscheiden. Der Grad einer Dysplasie war allerdings nicht bestimmbar.

Dieser durch Hamdoon et al. beschriebenen Problematik wurde sich in der vorliegenden Arbeit zugewandt: Ein Cutoff zur Unterscheidung zwischen low- und high-grade Läsionen wurde anhand der Epitheldicke gesetzt. Die Ergebnisse von Hamdoon et al. zeigen, dass, neben der Basalmembran, die Epitheldicke die höchste Korrelation mit der Histologie besitzt. Außerdem wird die OCT mit der CEM kombiniert, welche zytologische Veränderungen darstellen kann.

Ridgway et al. veröffentlichten 2006 eine der ersten in vivo OCT-Studien am Patienten. Sie begutachteten die Mundhöhle und den Oropharynx von 41 Teilnehmern mittels OCT. Teilweise waren Biopsien indiziert, so dass OCT-Bilder mit der histopathologischen Untersuchung verglichen werden konnten. Im gesunden Gewebe waren die Autoren in der Lage, das Epithel, die Basalmembran, die Lamina propria und mikroanatomische Strukturen klar voneinander abzugrenzen. In benignen und prämaligen Veränderungen fielen die Signalanstiege des Epithels und die erhöhte Epitheldicke auf. Die Differenzierung zwischen diesen beiden Läsionen gelang jedoch nicht verlässlich. Invasive Karzinome konnten aber durch die abnormale Gewebsarchitektur und den Integritätsverlust der Basalmembran deutlich dargestellt werden. Auch die Grenzen zwischen normalem und malignem Gewebe ließen sich mittels OCT aufzeigen.

Wilder-Smith et al. untersuchten 2009 50 Patienten mit Leuko- und Erythroplakien mittels TD-OCT. 2 Untersucher begutachteten nach einem kurzen Training die OCT-Bilder verblindet. Sie stellten ihre Diagnose anhand der Einteilung der Dysplasiegrade nach der WHO. Diese Diagnosen wurden mit den Ergebnissen der histopathologischen Untersuchung verglichen. Die Übereinstimmung zwischen Histologie und OCT ergab einen Kappawert von 0,858. Dies ist allerdings der gemittelte Kappawert der beiden Untersucher, die einzelnen Kappawerte sind nicht angegeben. Ein Karzinom konnte mit einer Sensitivität von 93% und einer Spezifität von 97% von allen anderen Diagnosen unterschieden werden. Zu beachten ist, dass Läsionen, die sich in der Histologie nicht als gesund, dysplastisch oder maligne zeigten, von der Studie ausgeschlossen wurden. Somit sind Veränderungen wie Hyperkeratosen und Entzündungen nicht in die Bewertung eingegangen. Gerade diese stellen aber ein Problem in der Diagnostik mittels OCT dar.

2010 führten Just et al. eine Studie zur Wertigkeit der OCT bei der Beurteilung von Larynxläsionen durch. 35 Patienten wurden an der Universität Lübeck mittels TD-OCT (Lübeck Series) und 26 Patienten an der Universität Rostock mittels SD-OCT (Rostock Series) untersucht. Die TD-OCT besitzt die größere Penetrationstiefe. Die SD-OCT zeigte Vorteile im

Handling und in der Bildqualität. Außerdem zeigt bei der SD-OCT ein Pilotstrahl die bewertete Stelle der Läsion exakt an, wodurch das OCT-Bild und die Biopsie aus exakt derselben Stelle gewonnen werden konnten. Dieses SD-OCT Gerät wurde auch in der vorliegenden Arbeit verwendet. Intraoperativ wurden OCT-Bilder generiert und anschließend eine Biopsie entnommen. 2 Untersucher analysierten die OCT-Bilder verblindet und beurteilten diese nach den Kriterien „Epitheldicke“ und „Integrität der Basalmembran“. Es wurden bestimmte Epitheldickenwerte aus Voruntersuchungen den einzelnen Dysplasiegraden der WHO zugeteilt. Als normal galt Epithel bspw. bis zu 150 μm , als benigne verändert bis zu 270 μm . Im Vergleich mit der Histopathologie sollten normale bzw. benigne von dysplastischen Läsionen unterschieden werden. Die OCT erreichte hierbei eine Sensitivität von 88%, eine Spezifität von 89% und eine Vorhersagegenauigkeit von 88%. Problematisch war die Bewertung bei Hyperkeratosen. Hier stieg die Epitheldicke z.T. auf 400 μm an, so dass darunter liegendes Gewebe nicht mehr beurteilt werden konnte. In der hier vorliegenden Arbeit lagen keine starken Hyperkeratosen vor. Allerdings zeigt die Mundhöhle aufgrund ihrer verschiedenen Epithelien ein variables Bild an normalen Epitheldicken, wodurch die Beurteilung und die Zuordnung der Läsion erschwert wurde.

Englhard et al. überprüften 2017 ebenfalls die Fähigkeiten der OCT bei der Differenzierung von benignen, prämaligen und malignen Larynxläsionen. Die von den Autoren verwendete intraoperative OCT (siehe 1.4.1.) ist das Nachfolgemodell der in der vorliegenden Arbeit gebrauchten Technik. Die mikroskopischen Bilder und die OCT Bilder konnten gleichzeitig auf dem Monitor abgebildet werden. Die Bilder ließen sich per Fußtaste aufnehmen und es handelte sich um eine erneuerte Software. 28 Larynxläsionen wurden mittels Mikroskopie und OCT besehen und der Chirurg beurteilte die Läsion bereits intraoperativ. Diagnosekriterien waren die Epitheldicke, die epitheliale Schichtung und die Integrität der Basalmembran. An die Bildgenerierung schlossen sich die Biopsie und der Vergleich der Ergebnisse mit der histopathologischen Untersuchung an. Die OCT erreichte in der Unterscheidung von benignen, prämaligen und malignen Läsionen eine Vorhersagegenauigkeit von 78,6%. Diese war 10% niedriger als der von Just et al. 2010 (s.o.) ermittelte Wert. Die Autoren beschrieben die Bildqualität als reduziert im Vergleich zu den OCT-Untersuchungen mittels Kontaktverfahren. Einige Läsionen mussten aufgrund technischer Probleme und daraus resultierender niedriger Bildqualität von der Studie ausgeschlossen werden. Durch Änderungen der Lichtintensität ließen sich die meisten Probleme beheben. Von 28 klinisch gesunden kontralateralen Geweben, waren nur 10 mittels OCT auswertbar. Was genau so problematisch war, wurde nicht für jeden einzelnen Fall dargestellt. Etwaige technische Schwierigkeiten ergaben sich während der Untersuchungen für die vorliegende Arbeit nicht. Zu beachten ist, dass die Vorhersagegenauigkeit vor allem sank, weil 4 CIS als Karzinom bewertet wurden. Hätte, wie in unserer Studie, die Einteilung in ein binäres System stattgefunden, wären die Ergebnisse bes-

ser interpretierbar gewesen. CIS und Karzinome hätten beide in der Gruppe der behandlungsbedürftigen Läsionen Platz gefunden. Hier wird deutlich, dass die OCT (noch) nicht in der Lage ist, die einzelnen Grade der Dysplasie verlässlich voneinander zu unterscheiden. Jedoch ist sie eine vielversprechende Technik zur Differenzierung von kontroll- und behandlungsbedürftigen Läsionen.

Anzumerken ist, dass die o.g. Studien nur bedingt mit der vorliegenden Arbeit vergleichbar sind. In den meisten o.g. Arbeiten wurde nicht dasselbe OCT-Gerät wie in der vorliegenden Arbeit verwendet wurde. Wie oben beschrieben, unterscheiden sich die einzelnen Methoden der OCT in der Art der Bildgenerierung. Daraus resultieren nicht nur verschiedene Auflösungen, sondern auch Unterschiede in der Penetrationstiefe und dem Handling. Es ist nicht bekannt, inwieweit die Verwendung der verschiedenen Geräte die Vergleichbarkeit der einzelnen Studien einschränkt. Außerdem liegen Unterschiede in der Wahl der Epithelien der Kopf-Hals-Region vor. Die vorliegende Arbeit konzentriert sich auf die Mundhöhle. Die o.g. Arbeiten befassten sich aber auch mit dem Larynx und dem Oropharynx. Zudem muss erwähnt werden, dass die Patientenzahlen, sowohl in der vorliegenden Arbeit, als auch in den diskutierten Studien gering sind. Außerdem fokussieren sich viele Studien auf die Detektion von Invasivität. Einige unterscheiden normale von dysplastischen Epithelien. In dieser Arbeit wurden Vorläuferläsionen in ein binäres System eingeordnet. Diese Auswertung unterscheidet zwischen low- und high-grade, bzw. kontroll- und behandlungsbedürftigen Läsionen. Somit liegt der Fokus der vorliegenden Arbeit auf der Früherkennung prämaligener Läsionen der Mundhöhle.

4.4.1 Problematik der physiologischen Epitheldicke und der Cutoff Setzung

In dieser Arbeit wurde die Differenzierung zwischen low- und high-grade Läsion mittels OCT anhand der Epitheldicke getroffen. Dafür ist es entscheidend zu wissen, welche Epitheldicke als physiologisch angesehen werden kann und wo die Grenzwerte zwischen low- und high-grade Läsionen liegen. Daten aus dem Bereich der Histologie lassen sich hierfür nicht verwenden, da sich das Gewebe durch die Formaldehydfixierung verändert (Dapson et al. 2007, Jonmaker et al. 2006, Quester et al. 1997). Bis 2012 fanden sich in der Literatur keinerlei Angaben zu Normalwerten der Epitheldicke der verschiedenen Regionen der Mundschleimhaut. 2012 generierten Prestin et al. Normaldaten der Epitheldicke aus 143 klinisch gesunden Probanden. Mittels TD-OCT maßen die Autoren jeweils bilateral die Epitheldicken von 9 verschiedenen Regionen der Mundhöhle. Dafür wurden jeweils 5 Messungen in immer denselben Abständen vollzogen und diese Ergebnisse gemittelt. So generierten sie die in Tab. 3 angegebenen Normaldaten. In der hier vorliegenden Arbeit wurden die Normaldaten von 5 gesunden Probanden ermittelt. Es wurden die Mittelwerte aus 10 Messungen der maximalen Epitheldicke ermittelt. Dies wurde bei der Auswertung der suspekten Läsionen ebenso ge-

handhabt. Anhand der Epitheldicke wurde anschließend der Schweregrad der Epithelveränderung definiert; d.h. je dicker das Epithel, desto größer die Wahrscheinlichkeit des Vorliegens einer schweren Dysplasie oder eines Karzinoms.

Die Unterschiede der Epitheldickenwerte der einzelnen Regionen der Mundhöhle zwischen Prestins und dieser Arbeit könnten an den verschiedenen Messvorgängen liegen. Natürlich ist festzuhalten, dass Prestin et al. mit 143 gesunden Probanden über eine deutlich größere Teilnehmerzahl als diese Autoren verfügten. Die von Prestin et al. ermittelten physiologischen Epitheldickenwerte nahmen daher Einfluss auf die Cutoff Setzung in dieser Arbeit. Zu beachten ist allerdings, dass Prestin et al. das OCT-Verfahren im Kontaktmodus verwendeten. Hierbei lässt sich ein gewisser Druck auf das zu untersuchende Gewebe nicht vermeiden. Die damit einhergehende Gewebskompression könnte die Epitheldickenmessung beeinflusst haben. In der vorliegenden Arbeit wurde die OCT unter Einsatz eines OP-Mikroskops im Non-Kontaktverfahren verwendet. Eine druckinduzierte Veränderung der Epitheldicke kann somit ausgeschlossen werden.

Prestin et al. ermittelten zudem weitere Einflussfaktoren auf die Epitheldicke. Die Epithelien des vorderen Gaumenbogens und des Mundbodens waren bei Männern signifikant dicker als bei Frauen. Im Bereich des Mundbodens zeigte sich das Epithel bei Rauchern dicker als bei Nichtrauchern. Je älter die Probanden waren, desto dicker war das Epithel der Gaumensehle. Jüngere Probanden besaßen ein dickeres Epithel der Wangenschleimhaut. Diese Ergebnisse zeigen, dass die Epitheldicke, neben ggf. vorhandenen Dysplasien, von verschiedenen anderen Faktoren beeinflusst wird. Um verlässliche physiologische Epitheldickenwerte zu erhalten, müssten diese Faktoren für jede Region der Mundhöhle in größeren Studien herausgearbeitet und in die Bewertung einbezogen werden.

Volgger et al. untersuchten in einer 2013 veröffentlichten Studie die Fähigkeit der OCT, prä-maligne und frühinvasive Läsionen des oberen Aerodigestivtraktes zu erkennen. Hierfür benötigten auch sie Normaldaten der Epitheldicken der Mundhöhle. Die Autoren verwendeten dasselbe OCT-System wie vor ihnen Prestin et al. Es wurden 52 gesunde Probanden rekrutiert und die Epitheldicke von jeweils 8 verschiedenen Regionen der Mundhöhle mittels OCT gemessen. Die Messung erfolgte an einem Areal des Epithels, welches, rein optisch betrachtet, die mittlere Dicke zu repräsentieren schien. Z. T. ähneln die Ergebnisse den in dieser Arbeit ermittelten Werten, z.T. unterscheiden sich die Ergebnisse stark. So liegt beispielsweise die mittlere Epitheldicke des Mundbodens bei Volgger et al. bei 126 μm , in dieser Arbeit bei 104 μm . Das Epithel des Zungenrandes ist laut Volgger et al. 357 μm dick, laut dieser Arbeit lediglich 212 μm . Hier stellt sich die Frage, ob tatsächlich das Epithel zwischen den Zungenpapillen erfasst wurde oder das Epithel der gustatorischen Faltenpapillen gemessen wurde. Zum Vergleich erarbeiteten Prestin et al. eine mittlere Epitheldicke des

Mundbodens von 99 μm und des Zungenrandes von 216 μm . Volgger et al. betonten die starken inter- und intraindividuellen Unterschiede der physiologischen Epitheldicken.

Volgger et al. verwendeten diese "Normalwerte" aber nicht um einen Cutoff zur Unterscheidung zwischen low- und high-grade Läsionen zu setzen, wie es in dieser Arbeit geschehen ist. Sie betrachteten retrospektiv die OCT-Bilder der bereits histologisch als Hyperplasie oder Dysplasie eingestuft Befunde und verglichen diese Epitheldicken mit den ermittelten Normalwerten. Die hyperplastischen und dysplastischen Läsionen wiesen um das 1,4 bis 5,7 fache erhöhte Epitheldicken auf. Diese Anstiege wurden allerdings weder einzelnen Läsionen noch einzelnen Regionen zugeordnet. Daraus hätten sich eventuell Aussagen darüber treffen lassen, ob sich das Epithel an der einen Lokalisation im Falle einer Hyperplasie bzw. Dysplasie stärker verdickt als an anderen Lokalisationen innerhalb der Mundhöhle.

Die Autoren rekrutierten zudem 74 Patienten mit insgesamt 100 Vorläuferläsionen (Leukoplakien und Erythroplakien) des oberen Aerodigestivtraktes. Diese Läsionen wurden mittels OCT besehen und anschließend biopsiert. Die OCT-Bilder wurden von 3 verblindeten Untersuchern bezüglich ihrer Invasivität (Integrität der Basalmembran) beurteilt und mit den Ergebnissen der histopathologischen Untersuchung verglichen. Die Sensitivitäten betrugen 100%, 66.7%, und 77.8% und die Spezifitäten 75.8%, 71.4% und 70.3%. Der Vergleich zu den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit fällt aus 2 Gründen schwer. Zum einen betrafen von den 100 Vorläuferläsionen nur 63 die Mundhöhle. Zum anderen wurden die Läsionen von Volgger et al. bezüglich ihrer Invasivität beurteilt. In der vorliegenden Arbeit ging es stattdessen um die Unterscheidung zwischen low- und high-grade Läsionen mittels der Epitheldicke.

Volgger et al. bestätigten in ihrer Studie die Fähigkeit der OCT, die Integrität der Basalzellschicht als Grenze zwischen Epithel und subepithelialen Raum gut darstellen und damit ein invasives Wachstum ermitteln zu können. Hyperplasien und Dysplasien konnten nicht visuell dargestellt, jedoch damit einhergehende Epithelverdickungen nachgewiesen werden. Die starken inter- und intraindividuellen Unterschiede der physiologischen Epitheldicken wurden von den Autoren betont.

Die Epitheldicke stellt in der vorliegenden Arbeit den Parameter zur Unterscheidung zwischen low- und high-grade Läsion mittels OCT dar. Eine bestimmte Epitheldicke muss die Grenze zwischen low- und high-grade Läsion darstellen. Wie oben bereits erwähnt, besteht die Mundhöhle je nach Region aus verschiedenen Epithelarten, welche verschiedene Epitheldicken aufweisen. Die Problematik, eine „normale“ Epitheldicke zu bestimmen, wurde oben diskutiert. Unter diesen Voraussetzungen war es schwierig, für jede Region eine Epitheldicke als Grenze zwischen low- und high-grade Läsion festzulegen. Die in dieser Arbeit bestimmten Normaldaten und die von Prestin et al. publizierten Epitheldickenwerte ge-

sunder Mundschleimhäute wurden den Epitheldickenmessungen maligner und prämaligener Mundschleimhautläsionen von Voruntersuchungen (unveröffentlichte Daten) gegenüber gestellt und willkürlich ein Cutoff gesetzt. Dieser liegt höher als die ermittelten Normalwerte, da bereits die low-grade Läsionen mit einem verdickten Epithel einhergehen. Aufgrund der geringen Teilnehmerzahlen in den einzelnen Studien und der Abhängigkeit der Epitheldicke von den verschiedenen o.g. Faktoren, sollte dieser Cutoff in größeren Studien validiert bzw. angepasst werden. Zudem ist in jeder Studie mit neuen vertikalen optischen Verfahren, wie der OCT, die Epitheldicke für die verschiedenen Regionen der Mundhöhle zu definieren, wenn diese für die Dysplasieeinteilung herangezogen werden.

Sowohl Prestin et al. als auch Volggers et al. zeigten in ihren Studien Ansätze, die Problematik der „normalen“ Epitheldicke zu umgehen:

Prestin et al. stellten fest, dass die Epitheldicke zwischen der linken und der rechten Probandenseite der jeweiligen Regionen keine Unterschiede aufwies. Gegebenenfalls wäre es praktikabler, die Epitheldicken der Läsionen mit denen der gesunden Gegenseite zu vergleichen, anstatt Normaldaten für die Bevölkerung zu generieren. Dafür müsste in einer großen Studie herausgearbeitet werden, ab welcher Abweichung zur Gegenseite es sich um eine low- bzw. eine high-grade Läsion handelt. So würden die interindividuellen Unterschiede in ihrer Bedeutung sinken.

Außerdem führten Volgger et al. Intensitätsmessungen mit den OCT-Bildern durch. Die Autoren wählten nach der histopathologischen Begutachtung 28 Hyperplasien und 20 Dysplasien für diese Untersuchung aus. Nach welchen Kriterien diese Auswahl erfolgte, ist nicht angegeben. Mit Hilfe des Programms Image J (Freeware, Wayne Rasband, US National Institute of Mental Health, Bethesda, MD) wurden Intensitätsprofile aus den OCT Bildern der Läsionen erstellt. Besonders wurde auf die sinkende Intensität von der Epitheloberfläche bis zu den tiefen Epithelschichten und auf den Intensitätsanstieg zwischen dem unteren Epithel und der Lamina propria geachtet. Es zeigte sich, dass die Intensität innerhalb des Epithels bei Dysplasien um 38,7%, bei Hyperplasien lediglich um 18,9% sank. Die Unterschiede waren hoch signifikant ($p < 0,001$). Der Intensitätsanstieg zwischen dem unteren Epithel und der Lamina propria zeigte keine signifikanten Unterschiede zwischen Hyperplasien und Dysplasien. Die Autoren erklären sich die vorhandenen Intensitätsunterschiede damit, dass Hyperkeratosen häufiger mit Dysplasien als mit Hyperplasien vergesellschaftet sind. Auch könnte laut den Autoren die behinderte Zellreifung in Dysplasien zu einem Intensitätsverlust führen. Diese signifikanten Unterschiede in den Intensitätsprofilen zwischen Hyperplasien und prämaligen Dysplasien müssten in größeren Studien bestätigt werden. Dann könnten auch auf diese Weise benigne von potentiell malignen Befunden mittels OCT differenziert werden.

4.5 Diskussion der klinischen Wertigkeit der CEM

Clark et al. führten 2003 eine ex vivo Studie durch, um die Eigenschaften von normaler und neoplastischer oraler Mukosa konfokalmikroskopisch darzustellen. Sie verwendeten dabei ein flexibles Endoskop. Die Exzidate von 15 Patienten mit SCC's wurden mittels Konfokalmikroskopie untersucht und anschließend mit den entsprechenden histopathologischen Bildern verglichen. Die Autoren beschrieben die starke Variation von Zellgröße, Kerngröße und Kernmorphologie in den SCC's. Außerdem wird über eine stärkere Rückstreuung durch Tumorzellen und eine erhöhte Kerndichte in SCC's berichtet. Des Weiteren erläuterten die Autoren das Aussehen von Entzündungen, Fibrosen, Muskelfasern und Drüsen in den CEM-Aufnahmen. Die Penetrationstiefe zeigte sich als variabel und vor allem bei Hyperkeratosen eingeschränkt. Die Autoren vermuteten die Ursache in dem hohen Refraktionsindex des Keratins. Diese beschreibende Studie zeigt deutlich das Potenzial der CEM zur Beurteilung von Läsionen, was es noch in entsprechenden in vivo Studien zu bestätigen galt.

Just et al. verglichen in einer in vivo Studie 2008 verändertes und gesundes Gewebe mittels CEM in vivo. Hierfür verwendeten sie den auch in der vorliegenden Arbeit benutzten Heidelberg Retina Tomografen (HRT II). An diesen wurde ein speziell angefertigter Adapter angebaut und ein Endoskop eingesetzt. Es wurden die Epithelien der Mundhöhle von 9 Patienten mit malignen Erkrankungen der Zunge und 12 Patienten mit Karzinomen im Kopf-Hals-Bereich nach Radiochemotherapie begutachtet. Diese verglichen sie mit CEM-Bildern von Gesunden. Die Autoren beschrieben die folgenden Parameter zur Beurteilung der Mukosa: Dichte, Anzahl und Größe der Zellkerne, Kern-Plasma-Relation, Regularität der Zellschichten, Morphologie der Zellen und das Vorhandensein von Zellgrenzen. Diese Parameter zeigten deutliche Unterschiede zwischen Karzinomen und gesundem Gewebe. Die Gewebe nach Radiochemotherapie zeigten auf den CEM-Aufnahmen Veränderungen wie Keratosen, erhöhte Vaskularisation, Zellödeme und milde Dysplasien. Die Autoren konnten somit zeigen, dass einige der histologischen Parameter, die zur Dignitätsbestimmung erforderlich sind, mittels CEM erfasst werden können. Diese Parameter wurden auch in der vorliegenden Arbeit für die Diagnosestellung mittels CEM verwendet. Das Gerät erwies sich für die Mundhöhle allerdings als unhandlich, da es für jede Untersuchung vom Stativ entfernt werden musste um es auf die zu untersuchende Region zu halten. Daher empfahlen die Autoren eine Verlängerung des Kontaktelementes.

Die o.g. Verlängerung des Kontaktelementes erfolgte durch das, ebenfalls in der vorliegenden Arbeit verwendete, starre Endoskop (Karl Storz, Tuttlingen). Getestet wurde es in einer tierexperimentellen Studie durch Farahati et al. 2010. Die Autoren induzierten die Tumorge-

nese an Mäusezungen. Die entstandenen Läsionen wurden ex vivo mittels der starren konfokalen Endoskopie untersucht und eine Differenzierung in geringe/moderate Dysplasie (low-grade Läsion) und schwere Dysplasie/CIS (high-grade Läsion) erfolgte. Die Ergebnisse wurden anschließend mit den Ergebnissen der histopathologischen Untersuchung verglichen. Die CEM erreichte in der Unterscheidung zwischen low- und high-grade Läsion eine Sensitivität von 73% und eine Spezifität von 88%. Farahati et al. betonen die deutliche Lernkurve bei der Beurteilung von Läsionen mittels CEM. Die Verwendung des starren Endoskops ging nicht mit einem Verlust an Bildinformationen einher, so dass es in der Hals-Nasen-Ohren-Klinik der Universitätsmedizin Rostock in weiteren Studien seinen Einsatz fand.

So verwendeten Just et al. 2013 das starre konfokale Endoskop während der Mikrolaryngoskopie, um suspekte Läsionen des Larynx zu begutachten. Das Endoskop erwies sich für die Untersuchung des Kehlkopfes als geeignet und die Untersuchung konnte ohne Assistenz erfolgen. Die am Ende des Endoskops befindliche zentrale Aussparung sorgte für einen geringeren Druck auf das Gewebe. Beides resultierte in einer besseren Bildqualität.

Haxel et al. veröffentlichten 2010 die erste Studie, welche den Nutzen der konfokalen Endoskopie in Kombination mit Fluoreszin in vivo im Bereich der Mundhöhle und des Oropharynx untersuchte. Ein flexibles Endoskop wurde verwendet. Die Autoren berichten über ein umständliches Handling und Bewegungsartefakte. Diese Probleme lagen in der vorliegenden Arbeit aufgrund des starren Endoskops nicht vor. 5 Patienten mit Läsionen der Mundhöhle wurden in vivo nach der Applikation von Fluoreszin mittels CEM begutachtet. Es wurden das Epithel, Zellverbände und die Vaskularisierung beschrieben. Nach Exzision der Läsion wurden die Proben ex vivo erneut analysiert. Die zweite Untersuchung erfolgte nach Acriflavinapplikation mit einem starren Endoskop. Nun waren Zellkerne und Mitosen gut sichtbar. Allerdings sank die Penetrationstiefe nach Acriflavinapplikation von 250 auf 50 µm.

Aufgrund der o.g. problematischen Handhabung des flexiblen Endoskops verwendeten Pogorzelski et al. 2 Jahre später ein starres Endoskop aus dem Bereich der Leberdiagnostik. Dieses wurde mit der Technik der Autofluoreszenz kombiniert. Es wurden 15 Patienten mit SCC's des Kopf-Hals-Bereiches rekrutiert. Die Strukturen des gesunden Gewebes konnten nach Applikation von Toluidinblau und Fluoreszin präzise gezeigt werden. Den Autoren gelang es, typische morphologische Malignitäts- und Dysplasiezeichen darzustellen. In der Autofluoreszenz zeigte sich eine Farbabschwächung in Bereichen maligner Transformation. Pogorzelski et al. kamen zu dem Schluss, dass die CEM intraoperativ zur frühen Diagnose von SCC's, bei der Wahl der Resektionsränder und der Identifizierung von multifokalen malignen Veränderungen von Nutzen sein könnte.

Pogorzelski et al. stellten allerdings fest, dass sich die Strukturen vor der Gabe von Fluoreszin nicht adäquat darstellen ließen. Diese Beobachtung wurde in der vorliegenden Arbeit

nicht gemacht. Hier ließen sich die Strukturen im zellulären und subzellulären Bereich gut bewerten, ohne eine zuvor erfolgte Fluoreszingabe. Dennoch wird in den meisten Studien über die CEM Fluoreszin verwendet (s.u.). Da nicht dieselben Geräte verwendet wurden, wie in der vorliegenden Arbeit, ist ein Methodenvergleich schwierig. In dieser Arbeit wurde bewusst auf die Verwendung eines Färbemittels verzichtet, da der Gebrauch von Fluoreszin nach der Erfahrung dieser Autoren keine nennenswerten Vorteile erbrachte. Das topische Färbemittel Acriflavin würde diese erbringen, da es sich intrazellulär anreichert und so deutlich Kerngrößen und Mitosen bestimmbar sind. Aufgrund der Annahme kanzerogener Eigenschaften ist dessen in vivo Verwendung jedoch obsolet.

Nathan et al. untersuchten 2014, inwieweit mit Hilfe der CEM die Unterscheidung zwischen Dysplasien, Nondysplasien und Karzinomen in vivo möglich ist. Sie verwendeten das Cellvizio CEM System mit flexibler Gastroflektroskopie und Fluoreszin. 21 Patienten mit Läsionen der Mundhöhle wurden mittels CEM untersucht. 16 hochqualitative Bilder wurden ausgewählt, verblindet diagnostiziert und mit den Ergebnissen der histopathologischen Untersuchung verglichen. In der Unterscheidung zwischen Dysplasien und Nondysplasien wurde eine Sensitivität von 80% erreicht. Dysplasien und Karzinome wurden mit einer Sensitivität von 86% differenziert. Die Unterscheidung zwischen Nondysplasien und Karzinomen gelang mit einer Sensitivität von 100%. Die Spezifitäten lagen bei allen 3 Fragestellungen bei 100%. In der vorliegenden Arbeit wurde für die Unterscheidung zwischen low- und high-grade Läsionen eine Sensitivität von 78% und eine Spezifität von 83% erreicht. Hierbei muss beachtet werden, dass der Vergleich schon durch die unterschiedlichen Geräte eingeschränkt ist. Außerdem beinhaltet die Unterscheidung zwischen low- und high-grade Läsionen die Unterscheidung zwischen leichter und moderater Dysplasie. Diese z.T. schwierige Entscheidung musste in der Einteilung von Nathan et al. nicht getroffen werden. Des Weiteren wurden in derselben Untersuchung 16 qualitativ hochwertige Bilder für die Diagnostik ausgewählt. Problematische Bildverhältnisse gingen also nicht in die Bewertung ein.

4.5.1 Problematik der Auswertung der CEM-Bilder

Da nur wenige Studien existieren, in denen die CEM mit der Histologie verglichen wird, ist es schwierig, brauchbare Diagnosekriterien festzulegen (Lucchese et al. 2016).

Den Informationen aus dem zellulären und subzellulären Bereich werden histologische Kriterien entnommen. Je nachdem, in welcher Schichttiefe die Veränderungen auftreten, wird die Diagnose erstellt. Man sieht jedoch von oben auf die einzelnen Gewebeschichten und erhält einen Flächenschnitt des Gewebes. Anders als bei der OCT, kann man diese Bilder nicht in einen adäquaten Abgleich mit den histopathologischen Bildern bringen. Die Auswertung er-

fordert einen erfahrenen Untersucher und viele Autoren betonen die Lernkurve in der Bewertung der CEM-Bilder (Just et al. 2008, Farahati et al. 2010).

Um die Übereinstimmung zwischen den verschiedenen Untersuchern besser einschätzen zu können, ließen Moore et al. 2016 50 Bilder und 10 Videos von 8 Untersuchern bewerten. Es wurde dasselbe Gerät und dieselbe Einteilung der Veränderungen wie bei Nathan et al. verwendet (s.o.). Für die Bilder ergab sich eine Übereinstimmung von $k=0,66$ und für die Videos $k=0,71$. Die Übereinstimmung der Untersucher mit der Histologie betrug $k=0,7$. Diese Übereinstimmungen sind zwar hoch, doch um die CEM in den klinischen Alltag zu integrieren, sind höhere Werte anzustreben. Zu beachten ist, dass die Untersucher vor der Bewertung einem Training unterzogen wurden. Leider wurden die Untersucher nicht nach ihrer Erfahrung aufgeteilt. Interessant wäre gewesen, wie hoch die Übereinstimmung von nach ihrer Erfahrung getrennten Untersuchern jeweils mit und ohne Training gewesen wäre.

Oetter et al. 2016 widmeten sich dem Problem der Auswertung der CEM-Bilder und entwarfen einen Score für die Diagnosestellung von Karzinomen, der auch für Nicht-Experten anwendbar sein sollte. Die Autoren verwendeten für ihre Studie das Cellvizio-System mit einer Coloflex Sonde und Fluoreszin. 3 Experten berichteten über ihre wichtigsten Diagnoseparameter bei der Identifizierung von Karzinomen mittels CEM. Diese betrafen die Gewebsarchitektur, die Zellmorphologie, die Fluoreszenzlücke und die Blutgefäße. Anhand dieser entwickelten die Autoren einen Score mit dessen Hilfe 3 unerfahrene Untersucher schließlich die CEM-Bilder beurteilen sollten. Je stärker die Veränderung, desto mehr Punkte wurden gegeben. Das Maximum lag bei 8 Punkten, ab 5 Punkten galt eine Läsion als Karzinom. Die Sensitivität in der Identifizierung von Karzinom betrug 97%, die Spezifität 89%. Diese guten Ergebnisse lassen hoffen, dass die Beurteilung von CEM-Bildern auch in vivo durch Scores vereinfacht und vereinheitlicht werden könnte. Der durch Oetter et al. verwendete Score hilft allerdings nur bei der Identifizierung von Malignomen. In der vorliegenden Arbeit, in der es um die Unterscheidung von low- und high-grade Läsionen ging, hätte dieser also nicht angewendet werden können. Geeigneter wäre ein Score, welcher auch die Unterscheidung zwischen einzelnen Dysplasiegraden ermöglicht. Ein solcher ist nach den Kenntnissen dieser Autoren nicht vorhanden.

In der vorliegenden Arbeit wurden die Zellveränderungen in Bezug auf die Basalzellschichtebene beschrieben. Lagen bereits an der Oberfläche dysplastische Zellen vor, konnte unabhängig von der Integrität der Basalmembran mindestens von einer schweren Dysplasie ausgegangen werden.

4.6 Diskussion der klinischen Wertigkeit der kombinierten Anwendung von OCT und CEM

Garcia-Hernandez et al. kombinierten 2013 die konfokale Mikroskopie und die HD-OCT zur Untersuchung gesunder Lippenmukosa. Es galt zu evaluieren, ob diese Methoden im Screening von oralem Krebs Verwendung finden könnten. Die Lippen von 10 gesunden Probanden wurden zunächst mit dem konfokalen Mikroskop, anschließend mit der OCT untersucht. Die Autoren berichten über eine, aus der Kombination resultierende, sehr gute Auflösung und Penetrationstiefe und bezeichnen die Bilder als „quasihistologisch“. Allerdings sind Pathologien oder andere Regionen der Mundhöhle nicht betrachtet worden. Auch nennen die Autoren keine Vorschläge zu Diagnoseschritten- und -kriterien. In der vorliegenden Arbeit wurden die Läsionen mit beiden Verfahren untersucht und die Bilder im Nachhinein ausgewertet. Um als low-grade Läsion zu gelten, mussten diese Diagnose beide Verfahren angeben. Sobald ein Verfahren eine Veränderung als high-grade Läsion einstufte, wurde diese auch so gewertet. Es wurde so vorgegangen, da im Zweifel eher eine Biopsie mehr entnommen, als ein Karzinom übersehen werden sollte.

An der Universitätsmedizin Rostock führten Stülpnagel et al. eine Studie über die Bedeutung der CEM und der OCT bei der Beurteilung von Läsionen des Larynx durch (Stülpnagel et al. 2017). Das Studiendesign ähnelte der vorliegenden Arbeit und es wurden dieselben optischen Systeme verwendet. 67 Patienten mit suspekten Larynxläsionen oder seit 3 Wochen bestehender ungeklärter Heiserkeit wurden mittels OCT bezüglich ihrer epithelialen Dicken untersucht. Im Gegensatz zu der vorliegenden Arbeit erfolgte hier zunächst die Exzision und erst im Anschluss die Diagnostik mittels CEM. Die Sensitivität in der Unterscheidung zwischen low- und high-grade Läsionen mittels OCT betrug 100%, die Spezifität 80%. Der Cutoff wurde bei 180 μm gesetzt. Die CEM erreichte eine Sensitivität von 86% und eine Spezifität von 92%. In der Kombination blieben die erreichten diagnostischen Gütekriterien der alleinigen OCT-Untersuchung bestehen. Die Kombination der Methoden glückte 3 falsch negative Befunde aus der CEM Diagnostik aus. Doch da eine Läsion nur als low-grade galt, wenn beide Methoden diese so einstufen, blieb es bei den 5 falsch-positiven Befunden aus der OCT-Diagnostik. In der vorliegenden Arbeit stieg die Sensitivität durch die Kombination der Verfahren auf 100%. Durch die höhere Spezifität, erreichten Stülpnagel et al. aber mit der Kombination eine um 7% höhere Vorhersagegenauigkeit als die Autoren dieser Arbeit. Dies könnte an der erschwerten Cutoff-Setzung für die Epitheldicken der verschiedenen Regionen der Mundhöhle liegen. Ein weiterer Grund wäre auch die ggf. exaktere Lokalisation der CEM-Aufnahmen durch das ex vivo Design der Untersuchung bei Stülpnagel et al. Um die beiden Methoden in den klinischen Alltag zur Differenzierung von Läsionen zu integrieren, müssen die Aufnahmen aber in vivo erstellt werden. Zudem ist es erforderlich, die Läsio-

onen auch in vivo bewerten zu können, um den Kliniker die Entscheidung über das weitere Vorgehen zu erleichtern. Das war weder bei Stülpnagel et al. noch in der vorliegenden Arbeit der Fall. Vor allem im Bereich des Larynx ist dies aber wichtig, da die Mikrolaryngoskopie und die Aufnahmen von OCT und CEM unter Anästhesie durchgeführt werden und daher wiederholte Untersuchungen vermieden werden sollten. Zudem wäre eine Vorgehensweise wünschenswert, die die Vorzüge der beiden Methoden schon während der in vivo Diagnostik kombiniert.

Volgger et al. wandten sich 2015 dieser Thematik zu und testeten eine zweistufige Vorgehensweise. Es wurde die TD-OCT und das Cellvizio CEM-System mit flexibler Gastroflexsonde und Fluoreszin verwendet. 30 Läsionen des Larynx (27) und der Mundhöhle (3) wurden zunächst mittels OCT betrachtet. Diese sollte zur Diagnostik von invasiven Karzinomen und gesundem Gewebe dienen. Zeigte sich das Epithel als verdickt, die Gewebsschichtung war aber erhalten, sollten diese Läsionen im Anschluss mittels CEM näher klassifiziert werden. Dies erfolgte sowohl unverblindet durch den Chirurgen, als auch im Anschluss verblindet durch 2 Untersucher. Es wurden Proben entnommen und die Ergebnisse mit denen der histopathologischen Untersuchung verglichen. Durch die OCT wurden lediglich 2 Läsionen (6,7%) falsch eingeordnet. Dies zeigt, dass die OCT zur Identifizierung von gesundem Gewebe und Karzinomen geeignet ist. Allerdings handelte es sich bei 27 von 30 Proben um Larynxläsionen. In der Mundhöhle ist durch die verschiedenen Regionen schwerer festzulegen, ab wann ein Epithel als verdickt gilt. Ob das Ergebnis im Falle der Mundhöhle ebenso gut wäre, bleibt daher zu überprüfen. Die unverblindete Auswertung der CEM erreichte eine Sensitivität von 100% und eine Spezifität von 40%. Verblindet betrug die Sensitivität 70% bzw. 80% und die Spezifität 68% bzw. 47%. In der vorliegenden Arbeit (verblindete Untersuchung) waren die Ergebnisse der CEM mit einer Sensitivität von 78% und einer Spezifität von 83% etwas besser. Allerdings gingen in dieser Arbeit auch Karzinome und gesundes Gewebe in die Bewertung ein, welche meist mittels Weißlichtmikroskopie einfacher zu differenzieren sind. Zudem muss natürlich beachtet werden, dass in der vorliegenden Arbeit ein starres Endoskop ohne Fluoreszineinsatz verwendet wurde. Die Kombination aus OCT und CEM erbrachte hier eine Sensitivität von 100% und eine Spezifität von 75%. Diese Werte sind aber nicht mit denen von Volgger et al. zu vergleichen, da hier die beiden Verfahren simultan in die Bewertung einbracht wurden. Zu bedenken ist außerdem, dass Volgger et al. vor allem Larynxläsionen betrachteten, wohingegen sich in dieser Untersuchung auf die Mundhöhle konzentriert wurde. Bei der Untersuchung mittels CEM wurde von Volgger et al. vor allem die Zellgröße als Kriterium herangezogen. Die Autoren mussten aber feststellen, dass andere Parameter, wie die Regularität von Zellformen- und -architektur, Vaskularisation und die Variation von Interzellulargaps, entscheidender für die Differenzierung zwischen

gesunden und malignen Gewebe sind. Des Weiteren waren 2 Untersucher zur Durchführung der Diagnostik nötig.

Letzteres Problem könnte gegebenenfalls durch ein kombiniertes Operationsmikroskop gelöst werden, welches beide Verfahren integriert. Ein solches wird bereits in der Schilddrüsenchirurgie getestet (De Montigny et al. 2014).

4.7 Diskussion der klinischen Pilotstudie

In dieser Arbeit wurde gezeigt, dass die Beurteilung von Läsionen der Mundhöhle allein anhand der Makroskopie keine zuverlässige Aussage darüber zulässt, ob es sich um eine gutartige Läsion oder um die Vorstufe eines Karzinoms handelt. Um dies umzusetzen wurde die Erfahrung des Untersuchers mit berücksichtigt. Es wurde postuliert, dass erfahrene Untersucher eher in der Lage sind, eine präzisere Einordnung der Läsionen der Mundhöhle vorzunehmen als Unerfahrene. Ein entsprechender Fragebogen wurde entwickelt. Es ging vor allem um für den Kliniker schwer zuzuordnende Befunde, d.h., der Kliniker konnte anhand der gezeigten Aufnahmen nicht sofort angeben, ob es sich um einen sicher gutartigen Befund (z.B. eine Entzündung) oder um einen eindeutig malignen Tumor handelt. Anzugeben hatte der Kliniker, ob er eine low- oder high-grade Läsion vermutet, wohl wissend, dass dies histologische Kriterien sind.

Die Einschätzung einer Läsion der Mundhöhle erfolgt zunächst anhand der Makroskopie. In der vorliegenden Arbeit wurde eruiert, ob die korrekte makroskopische Beurteilung von Läsionen der Mundhöhle abhängig von der Erfahrung des Untersuchers ist. Zu diesem Zweck wurden 5 erfahrenen Chirurgen und 5 Assistenzärzten der Hals-Nasen-Ohren-Klinik Rostock 5 verschiedene Bilder von schwer einzuschätzenden Läsionen der Mundhöhle via Power Point präsentiert. Die Untersucher sollten den Bildern eine Diagnose nach den Kriterien der WHO zuordnen. Die Ergebnisse wurden im Anschluss mit denen der histopathologischen Auswertung verglichen. Die Tumorchirurgen erreichten eine Sensitivität von 80%, die der Assistenzärzte lag mit 30% deutlich niedriger. Bei der Spezifität waren die Assistenzärzte allerdings deutlich besser als die Tumorchirurgen. Wichtig ist, dass die Assistenzärzte 28% der Läsionen unterdiagnostizierten. Die Tumorchirurgen überdiagnostizierten 28%.

Stülpnagel et al. 2016 führten eine ähnliche Untersuchung an der Hals-Nasen-Ohren-Klinik Rostock durch. Hierbei ging es allerdings um schwer einzuschätzende Läsionen des Larynx. Auch hier waren die erfahrenen Chirurgen besser in der Einschätzung, neigten aber ebenfalls zu Überdiagnosen.

Eine Überdiagnose hätte die Abklärung mittels Biopsie zur Folge. Die Unterdiagnosen sind jedoch als problematisch anzusehen. Diese hätten zu einer Verzögerung der Diagnose geführt und damit zu einer erhöhten Inzidenz von fortgeschrittenen Tumorstadien (Onizawa et al. 2003). Somit sind die unerfahrenen Ärzte in der Einschätzung der Läsionen weniger gut als die Tumorchirurgen. Die Einschätzung hängt also von der Erfahrung des Untersuchers ab. In der vorliegenden Studie ist natürlich zu beachten, dass Zahlen von 5 Personen pro Gruppe sehr gering sind. Das monozentrische Studiendesign hat hier Grenzen gesetzt. Zudem liegen dem Untersucher in der Klinik zusätzliche Informationen, wie Anamnese und Verschieblichkeit des Gewebes vor. Der Untersucher muss anhand der Makroskopie die Entscheidung fällen, ob eine Läsion kontrolliert werden kann oder ob eine Probe entnommen werden sollte. Das Training junger Ärzte in der Einschätzung von Läsionen könnte also bedeutungsvoll sein. Generell zeigt diese Studie aber auch, dass die makroskopische Beurteilung von Läsionen der Mundhöhle sogar für erfahrene Tumorchirurgen eine Herausforderung darstellt. Dies bestätigt die Sinnhaftigkeit von optischen Diagnoseverfahren, wie sie in dieser Arbeit geprüft wurden.

5 Ausblick

Viele Studien beinhalten vielversprechende Ergebnisse bezüglich der Verwendung der OCT und der CEM zur Differenzierung von Läsionen im Kopf-Hals-Bereich. Allerdings ist die geringe Probandenzahl in den Studien zu bedenken. Es mangelt in der Literatur an großen randomisierten Studien zu dieser Thematik.

In dieser Arbeit wurden die OCT und die CEM bezüglich ihrer Fähigkeiten, schwer einzuschätzende Läsionen der Mundhöhle zu beurteilen, getestet. Erstmals wurden dafür beide Verfahren in einer in vivo Untersuchung an Patienten mit Läsionen der Mundhöhle vergleichend überprüft.

Derzeit können mit Hilfe von OCT und CEM Karzinome von benignen Veränderungen meist differenziert werden. Eine Unterscheidung der einzelnen Dysplasiegrade ist allerdings schwieriger. Daher wurde in der vorliegenden Arbeit bewusst auf eine Bestimmung des genauen Dysplasiegrades verzichtet und sich auf die Unterscheidung zwischen low- und high-grade Läsionen konzentriert. Aus dieser Sicht ist die Einteilung der Läsionen in ein binäres System sinnvoll.

Der kombinierte Einsatz von OCT und CEM erscheint für die Frühdiagnostik des Mundhöhlenkarzinoms und deren Vorläufer vielversprechend. Sie können dem Kliniker die Entscheidung erleichtern, ob eine Läsion kontrolliert werden kann oder biopsiert werden muss. Die Ergebnisse sollten in großen randomisierten Studien und mit größerer Fallzahl überprüft und einheitliche Diagnosekriterien für die Verwendung der Verfahren erarbeitet werden. Der rasante Fortschritt der Entwicklung optischer Systeme ist bei der OCT gut nachvollziehbar. Wurden noch vor 6 Jahren OCT-Systeme verwendet, die 1000 A-Scans pro Sekunde liefern, bieten aktuell Hersteller bereits OCT-Systeme, die deutlich schneller sind (> 32.000 A-Scans pro Sekunde). Derartige OCT-Systeme werden angewendet zur intraoperativen Chirurgie des Auges, zur diagnostischen Unterstützung für Ophthalmologen und für Forschungszwecke auch in der HNO-Heilkunde (Lankenau et al. 2013).

Allerdings bestehen diesseits Zweifel an einem Gebrauch der CEM im klinischen Alltag in der Beurteilung von Läsionen im Kopf-Hals-Bereich. Grund dafür ist zum einen die Praktikabilität. Das Endoskop muss auf das zu untersuchende Gewebe aufgesetzt werden, wodurch die Probenentnahme aus exakt derselben Stelle nicht sichergestellt werden kann. Die OCT hingegen wurde in dieser Arbeit im Non-Kontaktmodus verwendet und ein Pilotstrahl markierte die jeweilige Region. Ein weiteres bisher ungelöstes Problem ist die Auswertung der CEM-Aufnahmen, wie in 4.4.2. diskutiert. Oetter et al. geben mit ihrem Score für die Auswer-

tung der CEM einen Ansatz. Allerdings gilt dieser nur für die Identifizierung von Karzinomen. Die Entwicklung von Softwarealgorithmen, wie von Betz et al. vorgeschlagen, würde dieses und auch das Problem der Untersucherabhängigkeit lösen. Allerdings sind zum derzeitigen Stand keine Softwarealgorithmen veröffentlicht. Volgger et al. schlagen in der Kombination von OCT und CEM ein zweistufiges Verfahren vor. Dies erscheint zweckmäßig, doch leider gaben die Autoren an, nicht die optimalen Diagnosekriterien bei der Bewertung der CEM-Aufnahmen verwendet zu haben. Sollte dies in einer weiteren Studie korrigiert werden, könnten daraus allerdings sehr gute diagnostische Wertigkeiten resultieren.

An dieser Stelle sei ebenfalls erwähnt, dass auch andere Indikationen als in der vorliegenden Arbeit überprüft werden. So könnte die OCT auch bei der Einschätzung von Resektionsrändern (Hamdoon et al. 2016) und bei der Wahl des Ortes der Biopsie (Adegun et al. 2012) Verwendung finden. Die CEM könnte ebenfalls zu einem Anstieg der vollständigen Tumorresektionen führen (Englhard et al. 2017).

Der Technik schreitet im Falle der OCT eher fort, als im Falle der CEM. Bei Letzterer wurde die Fähigkeit des Cellvizio Systems erweitert, indem fluoreszenzmarkierte Antikörper verwendet wurden (Englhard et al. 2017). Bei der OCT stellt beispielsweise die polarisations-sensitive OCT eine vielversprechende Weiterentwicklung dar.

Die polarisationssensitive OCT (PS-OCT) misst nicht nur die Intensität des reflektierten Lichtes, sondern auch dessen Doppelbrechung im Gewebe.

Kim et al. verwendeten 2010 ein multifunktionelles OCT-System, welches aus der SD-OCT und der PS-OCT bestand. Sie stellten damit verschiedene Läsionen der Stimmlippe von 22 Patienten in vivo dar. Sie erstellten 3D Rekonstruktionen von Polypen, Noduli, Papillomen, CIS und Karzinomen und beschrieben die Bilder ausführlich. Die PS-OCT stellte die höheren Kontraste bereit, um die einzelnen Gewebsschichten zu differenzieren.

Ein Jahr später arbeiteten Burns et al. mit Hilfe desselben multifunktionalen Systems heraus, welche Informationen die PS-OCT zusätzlich zur OCT bereitstellt. Dafür wurden 23 Patienten mit 18 benignen und 5 malignen Stimmlippenläsionen in vivo untersucht. Die PS-OCT stellte die Grenzen zwischen gesunden und pathologischen Gewebe klarer dar als die OCT. Bei einem Verlust der Gewebsschichtung, wie bei Polypen, Papillomen oder Karzinomen, war keine Quantifizierung der Doppelbrechung möglich. Besonders nützlich war die PS-OCT bei der Abgrenzung von Knoten und Narben. Die Autoren sehen die PS-OCT als sinnvolle Ergänzung zur OCT.

Auch die PS-OCT wurde bereits mit einem horizontalen Verfahren in Kombination betrachtet. Yoon et al. kombinierten 2010 die Autofluoreszenz mit der PS-OCT. Eigens zu diesem Zweck kreierten die Autoren ein multimodales endoskopisches System für die Visualisierung der Mundhöhle in vivo. Dieses wurde an einem Gewebs- und am Mausmodel getestet und

schließlich für die Untersuchung einer gesunden menschlichen Wangenschleimhaut und einer Zunge verwendet. Die einzelnen Gewebsschichten konnten durch die PS-OCT klar voneinander abgegrenzt werden. In Kombination mit der Autofluoreszenz wurden auch Blutgefäße, Lymphknoten und Nerven dargestellt.

Außerdem erstellten Lee et al. 2012 mit Hilfe einer speziellen Bildanalysetechnik Signalintensitätsprofile aus OCT-Bildern der oralen Mukosa nach dem Vorbild von früher veröffentlichten Studien (Tsai et al. 2009). Die Signalintensität ändert sich je nach Vorhandensein und Verteilung dysplastischer Zellen. Ziel der Autoren war es, eine Standardabweichung der Intensitätsunterschiede herauszuarbeiten. Eine bestimmte Standardabweichung sollte die Grenze zwischen milder und moderater Dysplasie darstellen. Die Ergebnisse erscheinen vielversprechend, müssen aber in großen Studien bestätigt werden. Außerdem betrachteten die Autoren nur die Wangenschleimhaut. Ob dieselbe Standardabweichung für alle Regionen der Mundhöhle gilt, ist bis dato nicht ermittelt.

Zudem sind speziell entwickelte OCT Scanner in der Lage, die Gewebserfusion in vivo darzustellen. Diese kann zur Diagnose von Läsionen beitragen und ggf. bei der Auswahl der Therapie helfen (Ozawa et al. 2009, Choi et al. 2014).

Derzeit wird ein OCT Scanner getestet, der sowohl die Gewebestrukturen, als auch die Gewebepfusion deutlich abbilden kann (Lee et al. 2017).

Mittlerweile wurden auch die High-Definition OCT (HD-OCT) und die High-Speed OCT (HS-OCT) entwickelt. Erstere zeichnet sich durch eine noch höhere Auflösung durch Synchronisation von Referenzspiegel und fokussierter Ebene aus (Garcia-Hernandez et al. 2013). Die mit Frequenzen im Megahertzbereich arbeitende HS-OCT verspricht eine höhere Bildqualität und befindet sich aktuell in der Diskussion (Klein et al. 2017).

Es besteht also Grund zu der Annahme, dass sich vor allem die OCT als zukunftssträchtiges Verfahren weiter entwickeln wird und möglicherweise bald in der Lage ist, Strukturen der zellulären Ebene darzustellen. Damit wären dann deutlich zuverlässigere Aussagen über den Schweregrad von Läsionen im Kopf-Hals-Bereich möglich.

6 Zusammenfassung

Die frühe Diagnose des oralen Plattenepithelkarzinoms ist essentiell für das Outcome der Patienten (Neville et al. 2002). Doch dem Kliniker stehen zur nicht invasiven Einschätzung oraler Läsionen lediglich die Weißlichtmikroskopie und die Bürstenbiopsie zur Verfügung. Die Entscheidung, ob eine Läsion kontrolliert oder biopsiert werden muss, sollte durch eine diagnostische noninvasive Methode erleichtert werden. In dieser Arbeit wurde untersucht, ob die CEM und die OCT diese Aufgabe erfüllen können. Hierbei ging es vor allem um schwer einzuschätzende Läsionen der Mundhöhle. Es wurden 27 Patienten der Hals-Nasen-Ohren-Klinik Rostock mittels OCT und CEM untersucht und die Ergebnisse mit denen der histopathologischen Untersuchung verglichen. Bei der Diagnostik mittels OCT ergaben sich eine Sensitivität von 89% und eine Spezifität von 79%. Die CEM erbrachte eine Sensitivität von 78% und eine Spezifität von 83%. Wurden beide Geräte in Kombination betrachtet, stieg die Sensitivität auf 100%, die Spezifität lag bei 75%. Diese Arbeit zeigt das Potenzial der OCT und der CEM in der Einschätzung oraler Läsionen. Die Kombination der Methoden ist aufgrund ihrer jeweiligen Eigenschaften sinnvoll. Diese Ergebnisse müssen in größeren randomisierten Studien bestätigt werden. Außerdem sollten weitere gestufte Verfahren geprüft werden um die Kombination von OCT und CEM in ihrer Nützlichkeit zu optimieren. Softwarealgorithmen könnten zudem die Diagnostik erleichtern und die Untersucherabhängigkeit der Verfahren minimieren.

Vor allem die OCT wird als zukunftssträchtiges Verfahren angesehen und ist möglicherweise bald auch in der Lage, dem Kliniker eine verlässliche Beurteilung von Läsionen des Kopf-Hals-Bereiches zu liefern.

7 Literaturverzeichnis

- Adegun, Oluyori Kutulola; Tomlins, Pete H.; Hagi-Pavli, Eleni; McKenzie, Gordon; Piper, Kim; Bader, Dan L.; Fortune, Farida (2012). Quantitative analysis of optical coherence tomography and histopathology images of normal and dysplastic oral mucosal tissues. *Lasers in medical science*. 27. pp. 795–804.
- Ahn, Y. C., Chung, J., Wilder-Smith, P., & Chen, Z. (2011). Multimodality approach to optical early detection and mapping of oral neoplasia. *Journal of biomedical optics*, 16(7), 076007-076007.
- Alford, W. J., VanderNeut, R. D., & Zaleckas, V. J. (1982). Laser scanning microscopy. *Proceedings of the IEEE*, 70(6), pp. 641-651.
- Arens, C., Betz, C., Kraft, M., & Voigt-Zimmermann, S. (2016). Narrow band imaging for early diagnosis of epithelial dysplasias and microinvasive tumors in the upper aerodigestive tract. *HNO*, 64(1), pp. 19-26.
- Bai, T., Zhang, L., Sharma, S., Jiang, Y. D., Xia, J., Wang, H., Qian W., Hou, X. H. (2017). Diagnostic performance of the confocal laser endomicroscopy of atrophy and gastric intestinal metaplasia: a meta-analysis. *Journal of Digestive Diseases*. pp. 273–282.
- Baumhoer D., Steinbrück I., Götz W. (2003) Kurzlehrbuch Histologie, 2. Auflage., Urban&Fischer, pp. 145-148.
- Betz, C. S., Kraft, M., Arens, C., Schuster, M., Pfeffer, C., Rühm, A., Stepp, A., Englhard, A., Volgger, V. (2016). Optical diagnostic methods for early tumour diagnosis in the upper aerodigestive tract: Quo vadis?. *HNO*, 64(1), pp. 41-48.
- Borlinghaus, R. T. (2016). *Konfokale Mikroskopie in Weiß: Optische Schnitte in allen Farben*. Springer-Verlag, pp. 57-58.
- Bosetti, C., Gallus, S., Trichopoulou, A., Talamini, R., Franceschi, S., Negri, E., & La Vecchia, C. (2003). Influence of the Mediterranean diet on the risk of cancers of the upper aerodigestive tract. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*, 12(10), pp. 1091-1094.
- Burkhardt, A. (2006). Die Bürstenbiopsie. Theorie und Praxis einer neuen Methode zur Früherkennung des Mundhöhlenkarzinoms. *Oralchirurgie Journal Ausgaben*, pp. 2-4.
- Burmeister, M., von Schwanewede, H., Stave, J., & Guthoff, R. F. (2009). Intraoral diagnostics using confocal laser scanning microscopy. *Biomedical Engineering*, 54(1), pp. 23-28.
- Burns, J. A., Kim, K. H., deBoer, J. F., Anderson, R. R., & Zeitels, S. M. (2011). Polarization-sensitive optical coherence tomography imaging of benign and malignant laryngeal lesions: an in vivo study. *Otolaryngology head and neck surgery*, 145(1), pp. 91-99.
- Cavanagh, H. D.; Jester, J. V.; Essepian, J.; Shields, W.; Lemp, M. A. (1990). Confocal microscopy of the living eye. The CLAO journal: official publication of the Contact Lens Association of Ophthalmologists, Inc. 16. pp. 65–73.

- Chen, S. F., Lu, C. W., Tsai, M. T., Wang, Y. M., Yang, C. C., & Chiang, C. P. (2006, January). Oral cancer diagnosis with optical coherence tomography. *Engineering in Medicine and Biology Society, 2005. IEEE-EMBS 2005. 27th Annual International Conference of the IEEE*. pp. 7227-7229.
- Choi, W. J., & Wang, R. K. (2014). In vivo imaging of functional microvasculature within tissue beds of oral and nasal cavities by swept-source optical coherence tomography with a forward/side-viewing probe. *Biomedical optics express*, 5(8), pp. 2620-2634.
- Chung, H., Lu, G., Tian, Z., Wang, D., Chen, Z. G., Fei, B. (2016). Superpixel-based spectral classification for the detection of head and neck cancer with hyperspectral imaging. In *Proceedings of SPIE--the International Society for Optical Engineering* (Vol. 9788). NIH Public Access.
- Clark, Anne L.; Gillenwater, Ann M.; Collier, Thomas G.; Alizadeh-Naderi, Reza; El-Naggar, Adel K.; Richards-Kortum, Rebecca R. (2003). Confocal microscopy for real-time detection of oral cavity neoplasia. *Clinical Cancer Research* 9. pp. 4714–4721.
- Dapson, R. W. (2007). Macromolecular changes caused by formalin fixation and antigen retrieval. *Biotechnic & Histochemistry*, 82(3), pp. 133-140.
- De Montigny, E., Strupler, M., Goulamhoussen, N., Madore, W. J., Ayad, T., Leblond, F., & Boudoux, C. (2014). Multi-scale and functional microscopy for head and neck tissue identification. In *Oral Presentation at SPIE BIOS 2014, Conference C* (Vol. 8926). URL: <http://spie.org/Documents/ConferencesExhibitions/PW14B-Abstracts.pdf>
- Driemel, O., Kunkel, M., Hullmann, M., Kleinsasser, N., Staudenmaier, R., Müller-Richter, U., Reichert, T. E., Kosmehl, H. (2008). Wertigkeit der konventionellen oralen Bürstenbiopsie. *HNO*, 56(2), pp. 205-210.
- Englhard, A. S., Palaras, A., Volgger, V., Stepp, H., Mack, B., Libl, D., Gires, O., Betz, C. S. (2017). Confocal laser endomicroscopy in head and neck malignancies using FITC-labelled EpCAM-and EGF-R-antibodies in cell lines and tumor biopsies. *Journal of biophotonics*, pp. 1365–1376.
- Farahati, B., Stachs, O., Prall, F., Stave, J., Guthoff, R., Pau, H. W., & Just, T. (2010). Rigid confocal endoscopy for in vivo imaging of experimental oral squamous intra-epithelial lesions. *Journal of oral pathology & medicine*, 39(4), pp. 318-327.
- Feldchtein, F. I., Gelikonov, G. V., Gelikonov, V. M., Iksanov, R. R., Kuranov, R. V., Sergeev, A. M., Gladkova, N.D., Ourutina, J. A., Reitze, D. H. (1998). In vivo OCT imaging of hard and soft tissue of the oral cavity. *Optics express*, 3(6), pp. 239-250.
- Forastiere, A., Koch, W., Trotti, A., & Sidransky, D. (2001). Head and neck cancer. *New England Journal of Medicine*, 345(26), pp. 1890-1900.
- Gale N, Pilch BZ, Sidransky D, Westra WH, Califano J (2005) Epithelial precursor lesions. In: Barnes L, Eveson JW, Reichart P, Sidransky D (eds) World Health Organization classification of tumours. *Pathology and genetics of head and neck tumours*. IARC, Lyon, pp 140–143.
- Garcia, J. M. B. B., Isaac, D. L. C., Avila, M. (2017). Diabetic retinopathy and OCT angiography: clinical findings and future perspectives. *International Journal of Retina and Vitreous*, 3(1), p. 14.

- García-Hernández, Alejandra; Roldán-Marín, Rodrigo; Iglesias-García, Pablo; Malvehy, Josep (2013). In Vivo Noninvasive Imaging of Healthy Lower Lip Mucosa: A Correlation Study between High-Definition Optical Coherence Tomography, Reflectance Confocal Microscopy, and Histology. *Dermatology research and practice*. ID: 205256.
- Gilgen, H. H., Novak, R. P., Salathe, R. P., Hodel, W., & Beaud, P. (1989). Submillimeter optical reflectometry. *Journal of Lightwave Technology*, 7(8), pp. 1225-1233.
- Gillenwater, Ann; Papadimitrakopoulou, Vali; Richards-Kortum, Rebecca (2006). Oral premalignancy: new methods of detection and treatment. *Current oncology reports*. 8., pp. 146–154.
- Goetz, M.; Kiesslich, R.; Dienes, H.-P.; Drebber, U.; Murr, E.; Hoffman, A.; Kanzler, S.; Galle, P. R.; Delaney, P.; Neurath, M. F. (2008). In vivo confocal laser endomicroscopy of the human liver: a novel method for assessing liver microarchitecture in real time. *Endoscopy*. 40. pp. 554–562.
- Green, Ben; Cobb, Alistair R M; Brennan, Peter A.; Hopper, Colin (2014). Optical diagnostic techniques for use in lesions of the head and neck: review of the latest developments. *The British journal of oral & maxillofacial surgery*, 52., pp. 675–680.
- Hamdoon, Z., Jerjes, W., Al-Delayme, R., McKenzie, G., Jay, A., & Hopper, C. (2012). Structural validation of oral mucosal tissue using optical coherence tomography. *Head & neck oncology*, 4(1), p. 29.
- Hamdoon, Zaid; Jerjes, Waseem; McKenzie, Gordon; Jay, Amrita; Hopper, Colin (2016). Optical coherence tomography in the assessment of oral squamous cell carcinoma resection margins. *Photodiagnosis and photodynamic therapy*. 13., pp. 211–217.
- Harms, V. (2004). Physik für Mediziner und Pharmazeuten, 16. Auflage, Kapitel 7 Optik, p. 264.
- Haxel, B. R., Goetz, M., Kiesslich, R., & Gosepath, J. (2010). Confocal endomicroscopy: a novel application for imaging of oral and oropharyngeal mucosa in human. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*, 267(3), pp. 443-448.
- Hellquist, H.; Cardesa, A.; Gale, N.; Kambic, V.; Michaels, L. (1999). Ljubljana classification of epithelial hyperplastic laryngeal lesions histopathology. 35., pp. 579–580.
- Huang, D.; Swanson, E. A.; Lin, C. P.; Schuman, J. S.; Stinson, W. G.; Chang, W.; Hee, M. R.; Flotte, T.; Gregory, K.; Puliafito, C. A (1991). Optical coherence tomography. *Science New York*, 254. pp. 1178–1181.
- Ilgner, J., Just, T., Farkas, C., Lenenbach, A., & Westhofen, M. (2016). Optical Coherence Tomography for the Middle and Inner Ear. *Biomedical Optics in Otorhinolaryngology*, Springer New York, pp. 545-557.
- Jerjes, W. K., Upile, T., Wong, B. J., Betz, C. S., Sterenborg, H. J., Witjes, M. J., Berg, K., van Veen, R., Biel, M., Mosse, C. A. et al. (2011). The future of medical diagnostics: review paper. *Head & neck oncology*, 3(1), p. 38.
- Jonmarker, S., Valdman, A., Lindberg, A., Hellström, M., Egevad, L. (2006). Tissue shrinkage after fixation with formalin injection of prostatectomy specimens. *Virchows Archiv*, 449(3), 297-301. journal for clinicians. 52. pp. 195–215.

- Just, T., & Pau, H. W. (2013). Intra-operative application of confocal endomicroscopy using a rigid endoscope. *The Journal of laryngology and otology*, 127(6), p. 599.
- Just, T., Guder, E., Witt, G., Ovari, A., von Stülpnagel, B., Lankenau, E., Prall, F., Hüttmann, G., Pau, H. W. (2016). Confocal Endomicroscopy and Optical Coherence Tomography for Differentiation Between Low-Grade and High-Grade Lesions of the Larynx. In *Biomedical Optics in Otorhinolaryngology* Springer New York., pp. 479-490.
- Just, T., Lankenau, E., Prall, F., Hüttmann, G., Pau, H. W., & Sommer, K. (2010). Optical coherence tomography allows for the reliable identification of laryngeal epithelial dysplasia and for precise biopsy: a clinicopathological study of 61 patients undergoing microlaryngoscopy. *The Laryngoscope*, 120(10), pp. 1964-1970.
- Just, T., Stave, J., Boltze, C., Wree, A., Kramp, B., Guthoff, R. F., Pau, H. W. (2006). Laser scanning microscopy of the human larynx mucosa: a preliminary, ex vivo study. *The Laryngoscope*, 116(7), pp. 1136-1141.
- Just, T., Stave, J., Bombor, I., Kreutzer, H. J., Guthoff, R., & Pau, H. W. (2008). In-vivo-Diagnostik von Epithelveränderungen des Oropharynx mittels konfokaler Mikroskopie. *Laryngo-Rhino-Otologie*, 87(03), pp. 174-180.
- Just, T., Stave, J., Stachs, O., Witt, G., Guthoff, R., Pau, H. W. (2011). Rigid confocal endoscopy of the larynx. In *Laser Scanning, Theory and Applications*. InTechOpen
- Kademani, D., Bell, R. B., Bagheri, S., Holmgren, E., Dierks, E., Potter, B., & Homer, L. (2005). Prognostic factors in intraoral squamous cell carcinoma: the influence of histologic grade. *Journal of oral and maxillofacial surgery*, 63(11), pp. 1599-1605.
- Kang J. U. et al. (2013) Fiber Optic Sensing and Imaging Chapter 2: Fiber Optic Interferometric Devices, Sharma U., 2.3.1. Michelson Interferometer, Springer Science+Business Media New York, p. 40.
- Kao, S. Y., & Lim, E. (2015). An overview of detection and screening of oral cancer in Taiwan. *The Chinese journal of dental research: the official journal of the Scientific Section of the Chinese Stomatological Association (CSA)*, 18(1), pp. 7-12.
- Kebabcioğlu, Ö., & Pekiner, F. N. (2017). Assessing Oral Cancer Awareness Among Dentists. *Journal of cancer education: the official journal of the American Association for Cancer Education*, pp. 1-7.
- Kim, K. H., Burns, J. A., Bernstein, J. J., Maguluri, G. N., Park, B. H., & de Boer, J. F. (2010). In vivo 3D human vocal fold imaging with polarization sensitive optical coherence tomography and a MEMS scanning catheter. *Optics express*, 18(14), pp. 14644-14653.
- Kirsch, C. (2007). Oral cavity cancer. *Topics in Magnetic Resonance Imaging*, 18(4), pp. 269-280.
- Klein, T., & Huber, R. (2017). High-speed OCT light sources and systems. *Biomedical optics express*, 8(2), pp. 828-859.
- Klöppel, Günter; Kreipe, Hans H.; Remmele, Wolfgang; Cardesa, Antonio; Mentzel, Thomas; Rudolph, Pierre; Slootweg, Pieter J. (2009). Pathologie. Kopf-Hals-Region, Weichgewebstumoren, Haut. 3. Auflage, Chapter 1, pp.8-10.

- Knappe, S.; Stachs, O.; Guthoff, R. (2007). Corneal changes after wearing orthokeratology contact lenses. *Ophthalmologie*. 104., pp. 681–687.
- Krishna, S. G., Brugge, W. R., Dewitt, J. M., Kongkam, P., Napoleon, B., Robles-Medranda, C., Tan, D., El-Dika, S., Dillhoff, M. E. et al. (2017). Needle-based confocal laser endomicroscopy for the diagnosis of pancreatic cystic lesions: an international external interobserver and intraobserver study (with videos). *Gastrointestinal Endoscopy*, pp. 644-654.
- Kujan, O., Oliver, R. J., Khattab, A., Roberts, S. A., Thakker, N., Sloan, P. (2006). Evaluation of a new binary system of grading oral epithelial dysplasia for prediction of malignant transformation. *Oral oncology*, 42(10), pp. 987-993.
- La Vecchia, C., Tavani, A., Franceschi, S., Levi, F., Corrao, G., & Negri, E. (1997). Epidemiology and prevention of oral cancer. *Oral oncology*, 33(5), pp. 302-312.
- Laffers, W., Westermann, S., Regeling, B., Thies, B., Martin, R., Gerstner, A. O. & Mueller, N. A. (2016). Evaluation Of Early Recognition Of Precancerous And Cancerous Lesions In Mouth And Oropharynx By Hyperspectral Imaging. *Lasers in Surgery And Medicine*, 48, pp. 41-42.
- Lankenau, E. M., Krug, M., Oelckers, S., Schrage, N., Just, T., & Hüttmann, G. (2013). iOCT with surgical microscopes: a new imaging during microsurgery. *Advanced Optical Technologies*, 2(3), pp. 233-239.
- Lankenau, E., Klinger, D., Winter, C., Malik, A., Müller, H. H., Oelckers, S., Pau, H. W., Just, T., Hüttmann, G. (2007). Combining optical coherence tomography (OCT) with an operating microscope. *Advances in medical engineering*, Springer, Berlin, Heidelberg., pp. 343-348.
- Lee, C. K., Chi, T. T., Wu, C. T., Tsai, M. T., Chiang, C. P., & Yang, C. C. C. (2012). Diagnosis of oral precancer with optical coherence tomography. *Biomedical optics express*, 3(7), pp. 1632-1646.
- Lee, C. Y., Chen, W. C., & Tsai, M. T. (2017). Noninvasive imaging of oral mucosae with optical coherence tomography. *SPIE Technologies and Applications of Structured Light*. International Society for Optics and Photonics. pp. 102511E-102511E.
- Lingen, M. W., Kalmar, J. R., Karrison, T., & Speight, P. M. (2008). Critical evaluation of diagnostic aids for the detection of oral cancer. *Oral oncology*, 44(1), 10-22.
- Lissowska, J., Pilarska, A., Pilarski, P., Samolczyk-Wanyura, D., Piekarczyk, J., Bardin-Mikollajczak, A., Zatonski, W., Herrero, W., Munoz, M. & Franceschi, S. (2003). Smoking, alcohol, diet, dentition and sexual practices in the epidemiology of oral cancer in Poland. *European Journal of Cancer Prevention*, 12(1), pp. 25-33.
- Liu, B., & Brezinski, M. E. (2007). Theoretical and practical considerations on detection performance of time domain, Fourier domain, and swept source optical coherence tomography. *Journal of biomedical optics*, 12(4), pp. 044007-044007.
- Llewellyn, C. D., Johnson, N. W., & Warnakulasuriya, K. A. A. S. (2001). Risk factors for squamous cell carcinoma of the oral cavity in young people—a comprehensive literature review. *Oral oncology*, 37(5), pp. 401-418.

- Lucchese, A., Gentile, E., Romano, A., Maio, C., Laino, L., & Serpico, R. (2016). The potential role of in vivo reflectance confocal microscopy for evaluating oral cavity lesions: a systematic review. *Journal of Oral Pathology & Medicine*, 45(10), pp. 723-729.
- Lüllmann-Rauch (2015). *Taschenlehrbuch Histologie*, 5. Auflage, 15.1 Mundschleimhaut, p. 388.
- Mahajan, M. C., & Hazarey, V. K. (2004). An assessment of oral epithelial dysplasia using criteria of Smith & Pindborg Grading System & Ljubljana Grading System in oral precancerous lesions. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology*, 8(2), p. 73.
- Mehanna, Hisham M.; Rattay, Tim; Smith, Joel; McConkey, Christopher C. (2009). Treatment and follow-up of oral dysplasia - a systematic review and meta-analysis. *Head and Neck*. 31. pp. 1600–1609.
- Minsky, M. (1961). *U.S. Patent No. 3,013,467*. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
- Moore, C., Mehta, V., Ma, X., Chaudhery, S., Shi, R., Moore-Medlin, T., Lian, T. & Nathan, C. A. O. (2016). Interobserver agreement of confocal laser endomicroscopy for detection of head and neck neoplasia. *The Laryngoscope*, 126(3), pp. 632-637.
- Nankivell, P., Williams, H., Matthews, P., Suortamo, S., Snead, D., McConkey, C., & Mehanna, H. (2013). The binary oral dysplasia grading system: validity testing and suggested improvement. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology and oral radiology*, 115(1), pp. 87-94.
- Nathan, C. A. O., Kaskas, N. M., Ma, X., Chaudhery, S., Lian, T., Moore-Medlin, T., Shi, R., & Mehta, V. (2014). Confocal laser endomicroscopy in the detection of head and neck precancerous lesions. *Otolaryngology--Head and Neck Surgery*, 151(1), pp. 73-80.
- Neville, B. W., & Day, T. A. (2002). Oral cancer and precancerous lesions. *CA: a cancer journal for clinicians*, 52(4), pp. 195-215.
- Oetter, N., Knipfer, C., Rohde, M., Wilmowsky, C., Maier, A., Brunner, K., Adler, W., Neukam, F.-W., Neumann, H. & Stelzle, F. (2016). Development and validation of a classification and scoring system for the diagnosis of oral squamous cell carcinomas through confocal laser endomicroscopy. *Journal of translational medicine*, 14(1), p. 159.
- Onizawa, Kojiro; Nishihara, Kazunari; Yamagata, Kenji; Yusa, Hiroshi; Yanagawa, Toru; Yoshida, Hiroshi (2003). Factors associated with diagnostic delay of oral squamous cell carcinoma. *Oral oncology*, 39. pp. 781–788.
- Ozawa, N., Sumi, Y., Chong, C., & Kurabayashi, T. (2009). Evaluation of oral vascular anomalies using optical coherence tomography. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 47(8), pp. 622-626.
- Paczona, R., Temam, S., Janot, F., Marandas, P., & Luboinski, B. (2003). Autofluorescence videoendoscopy for photodiagnosis of head and neck squamous cell carcinoma. *European archives of oto-rhino-laryngology*, 260(10), pp. 544-548.
- Paré, A., & Joly, A. (2017). Cancers de la cavité buccale: facteurs de risque et prise en charge. *La Presse Médicale*, 46(3), pp. 320-330.

- Patton, L. L., Epstein, J. B., & Kerr, A. R. (2008). Adjunctive techniques for oral cancer examination and lesion diagnosis: a systematic review of the literature. *The Journal of the American Dental Association*, 139(7), pp. 896-905.
- Poate, T. W. J., Buchanan, J. A. G., Hodgson, T. A., Speight, P. M., Barrett, A. W., Moles, D. R., Scully, C. & Porter, S. R. (2004). An audit of the efficacy of the oral brush biopsy technique in a specialist Oral Medicine unit. *Oral oncology*, 40(8), pp. 829-834.
- Pogorzelski, B., Hanenkamp, U., Goetz, M., Kiesslich, R., & Gosepath, J. (2012). Systematic intraoperative application of confocal endomicroscopy for early detection and resection of squamous cell carcinoma of the head and neck: a preliminary report. *Archives of Otolaryngology–Head & Neck Surgery*, 138(4), pp. 404-411.
- Prestin, S., Rothschild, S. I., Betz, C. S., & Kraft, M. (2012). Measurement of epithelial thickness within the oral cavity using optical coherence tomography. *Head & neck*, 34(12), pp. 1777-1781.
- Quester, R., & Schröder, R. (1997). The shrinkage of the human brain stem during formalin fixation and embedding in paraffin. *Journal of neuroscience methods*, 75(1), pp. 81-89.
- Reichart, P. A. (2000). Primärprävention des Mundhöhlenkarzinoms und oraler Präkanzerosen. *Mund-, Kiefer-und Gesichtschirurgie*, 4(6), pp. 357-364.
- Reichart, P. A., & Philipsen, H. P. (2005). Oral erythroplakia—a review. *Oral oncology*, 41(6), pp. 551-561.
- Remmerbach, T. W., Mathes, S. N., Weidenbach, H., Hemprich, A., & Böcking, A. (2004). Nichtinvasive Bürstenbiopsie als innovative Methode in der Früherkennung des Mundhöhlenkarzinoms. *Mund-, Kiefer-und Gesichtschirurgie*, 8(4), pp. 229-236.
- Ridgway, J. M., Armstrong, W. B., Guo, S., Mahmood, U., Su, J., Jackson, R. P., Shibuya, T., Crumley, R., Gu, M., Chen, Z. & Wong, B. J. F. (2006). In vivo optical coherence tomography of the human oral cavity and oropharynx. *Archives of Otolaryngology–Head & Neck Surgery*, 132(10), pp. 1074-1081.
- Robert Koch Institut (2012), Krebs in Deutschland 2011/2012. 10. Ausgabe.
- Robert Koch Institut: Zentrum für Krebsregisterdaten des Robert Koch Instituts, Epidemiologische Krebsregistrierung, Datenbankabfrage.
- Robert Koch Institut (2016), Bericht zum Krebsgeschehen 2016. URL: <http://www.rki.de/Krebs/DE/Content/Publikationen/Krebsgeschehen>
- Rohrschneider, K., Burk, R. O., Kruse, F. E., & Völcker, H. E. (1994). Reproducibility of the optic nerve head topography with a new laser tomographic scanning device. *Ophthalmology*, 101(6), pp. 1044-1049.
- S 2 k-Leitlinie „Diagnostik und Management von Vorläuferläsionen des oralen Plattenepithelkarzinoms in der Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde“ 2010.

S3 Leitlinie Mundhöhlenkarzinom 2012: Diagnostik und Therapie des Mundhöhlenkarzinoms. 12/2012. Version 2.0.

Sciubba, J. J., & US Collaborative OralCDx Study Group. (1999). Improving detection of precancerous and cancerous oral lesions: computer-assisted analysis of the oral brush biopsy. *The Journal of the American Dental Association*, 130(10), pp. 1445-1457.

Semwogerere, D., & Weeks, E. R. (2005). Confocal microscopy. *Encyclopedia of Biomaterials and Biomedical Engineering*, 23, pp. 1-10.

Sharwani, A., Jerjes, W., Salih, V., Swinson, B., Bigio, I. J., El-Maaytah, M., & Hopper, C. (2006). Assessment of oral premalignancy using elastic scattering spectroscopy. *Oral oncology*, 42(4), pp. 343-349.

Siegel, R. L., Miller, K. D., Fedewa, S. A., Ahnen, D. J., Meester, R. G., Barzi, A., & Jemal, A. (2017). Colorectal cancer statistics, 2017. *CA: a cancer journal for clinicians*, 67(3), pp. 177-193.

Speight, P. M. (2007). Update on oral epithelial dysplasia and progression to cancer. *Head and neck pathology*, 1(1), pp. 61-66.

Statistisches Bundesamt 2017: Statistisches Bundesamt, Destatis, 2017.

Stave, J., Zinser, G., Grümmer, G., & Guthoff, R. (2002). Der modifizierte Heidelberg-Retina-Tomograph HRT Erste Ergebnisse einer In-vivo-Darstellung von kornealen Strukturen. *Der Ophthalmologe*, 99(4), pp. 276-280.

Steele, Toby O.; Meyers, Arlen (2011). Early detection of premalignant lesions and oral cancer. *Otolaryngologic clinics of North America*. 44., pp. 221-229.

Stifter, D., Dufau, A. D., Breuer, E., Wiesauer, K., Burgholzer, P., Höglinger, O., Götzinger, E. & Hitzemberger, C. K. (2005). Polarisation-sensitive optical coherence tomography for material characterisation and testing. *Insight-Non-Destructive Testing and Condition Monitoring*, 47(4), pp. 209-212.

Stülpnagel, B., Hagen, R., Olzowy, B., Witt, G., Pau, H. W., & Just, T. (2014). Comparative study between the surgeon's intraoperative evaluation and histopathology for diagnosis of laryngeal lesions. *International Scholarly Research Notices*, 2014. Article ID 635251.

Stülpnagel (2017). Einsatz der konfokalen Endomikroskopie und der optischen Kohärenztomografie in der Diagnostik epithelialer Stimmlippendysplasien, Klinik für Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde der Universitätsmedizin Rostock.

Tsai MT, Lee CK, Lee HC, Chen HM, Chiang CP, Wang YM, Yang CC (2009): Differentiating oral lesions in different carcinogenesis stages with optical coherence tomography. *J Biomed Opt.* 2009 doi:10.1117/1.3200936.

Vigneswaran, N., & Williams, M. D. (2014). Epidemiologic trends in head and neck cancer and aids in diagnosis. *Oral and maxillofacial surgery clinics of North America*, 26(2), pp. 123-141.

Vogel, D. W. T., Zbaeren, P., & Thoeny, H. C. (2010). Cancer of the oral cavity and oropharynx. *Cancer Imaging*, 10(1), p. 62.

- Volgger, V., Felicio, A., Lohscheller, J., Englhard, A. S., Al-Muzaini, H., Betz, C. S., & Schuster, M. E. (2017). Evaluation of the combined use of narrow band imaging and high-speed imaging to discriminate laryngeal lesions. *Lasers in Surgery and Medicine*, pp. 609-618.
- Volgger, V., Girschick, S., Ihrler, S., Englhard, A. S., Stepp, H., & Betz, C. S. (2016). Evaluation of confocal laser endomicroscopy as an aid to differentiate primary flat lesions of the larynx: A prospective clinical study. *Head & neck*, 38, pp. E1695–E1704.
- Volgger, Veronika; Stepp, Herbert; Ihrler, Stephan; Kraft, Marcel; Leunig, Andreas; Patel, Parag M.; Susarla, Malavika; Jackson, Kathleen; Betz, Christian S. (2013). Evaluation of optical coherence tomography to discriminate lesions of the upper aerodigestive tract. *Head Neck*. 35., pp. 1558–1566.
- Warnakulasuriya, S., Johnson, N., & Van der Waal, I. (2007). Nomenclature and classification of potentially malignant disorders of the oral mucosa. *Journal of oral pathology & medicine*, 36(10), pp. 575-580.
- Warnakulasuriya, S.; Reibel, J.; Bouquot, J.; Dabelsteen, E. (2008). Oral epithelial dysplasia classification systems: predictive value, utility, weaknesses and scope for improvement. *Journal of oral pathology & medicine*. 37. pp. 127–133.
- Waschke J., Böckers M., Paulsen F. (2015) *Anatomie – Das Lehrbuch*, Sobotta, 1. Auflage, Chapter 9.7: Arnold W.H., Urban&Fischer, pp. 512-535.
- Wei, W.; Yang, W.; Zhao, L.; Shi, X.; Chen, Z.; Wang, J. (1999). Optical coherence tomography of macular holes. *Chinese journal of ophthalmology*. 35. pp. 419-421.
- Weijers, M., Leemans, C. R., Aartman, I. H., Karagozoglu, K. H., & van der Waal, I. (2011). Oral cancer trends in a single head-and-neck cancer center in the Netherlands; decline in T-stage at the time of admission. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*, 16(7), pp. 914-918.
- Welsch U., Kummer W., Deller T. (2014) *Lehrbuch Histologie*, 4. Auflage, Urban&Fischer.
- Wessels, R.; De Bruin, D M; Faber, D. J.; Van Leeuwen, T G; van Beurden, M.; Ruers, T J M (2014). Optical biopsy of epithelial cancers by optical coherence tomography (OCT). *Lasers in medical science*, 29. pp. 1297–1305.
- Westra, W. H. (2009). The changing face of head and neck cancer in the 21st century: the impact of HPV on the epidemiology and pathology of oral cancer. *Head and neck pathology*, 3(1), p. 78.
- Westra, W. H., & Lewis, J. S. (2017). Update from the 4th Edition of the World Health Organization Classification of Head and Neck Tumours: Oropharynx. *Head and neck pathology*, 11(1), pp. 41-47.
- Wijmans, L., d'Hooghe, J. N., Bonta, P. I., & Annema, J. T. (2017). Optical coherence tomography and confocal laser endomicroscopy in pulmonary diseases. *Current opinion in pulmonary medicine*, 23(3), pp. 275-283.
- Wilder-Smith, P., Holtzman, J., Epstein, J., & Le, A. (2010). Optical diagnostics in the oral cavity: an overview. *Oral diseases*, 16(8), pp. 717-728.

Wong, B. J., Jackson, R. P., Guo, S., Ridgway, J. M., Mahmood, U., Su, J., Shibuya, T., Crumley, R., Gu, M., Armstrong, W. & Chen, Z. (2005). In vivo optical coherence tomography of the human larynx: normative and benign pathology in 82 patients. *The Laryngoscope*, 115(11), pp. 1904-1911.

Yakin, Muhammed; Gavidi, Ratu Osea; Cox, Brian; Rich, Alison (2017). The New Zealand medical journal. 130., pp. 30-38.

Yoon, Y., Jang, W. H., Xiao, P., Kim, B., Wang, T., Li, Q., Lee, J., Chung, E. & Kim, K. H. (2015). In vivo wide-field reflectance/fluorescence imaging and polarization-sensitive optical coherence tomography of human oral cavity with a forward-viewing probe. *Biomedical optics express*, 6(2), pp. 524-535.

Zhang K., Kang U. (2013). *Fiber Optic Sensing and Imaging*, Chapter 6, Principles of Optical Coherence Tomography, Springer Science+Business Media New York, pp. 150-152.

Zhivov, A.; Stave, J.; Vollmar, B.; Guthoff, R. (2005). In vivo confocal microscopic evaluation of Langerhans cell density and distribution in the normal human corneal epithelium. *Graefes archive for clinical and experimental ophthalmology*. 243. pp. 1056–1061.

8 Anhang

Vierfeldertafeln zum Errechnen der diagnostischen Gütekriterien:

Tab. 16: Vierfeldertafel zum Errechnen der diagnostischen Gütekriterien der OCT

	Histologie			
OCT		kontrollbedürftig	behandlungsbedürftig	
	kontrollbedürftig	19	1	20
	behandlungsbedürftig	5	8	13
		24	9	33

Tab. 17: Vierfeldertafel zum Errechnen der diagnostischen Gütekriterien der CEM

	Histologie			
CEM		kontrollbedürftig	behandlungsbedürftig	
	kontrollbedürftig	20	2	22
	behandlungsbedürftig	4	7	11
		24	9	33

Tab. 18: Vierfeldertafel zum Errechnen der diagnostischen Gütekriterien der Kombination von OCT und CEM

	Histologie			
OCT und CEM		kontrollbedürftig	behandlungsbedürftig	
	kontrollbedürftig	18	0	18
	behandlungsbedürftig	6	9	15
		24	9	33

Tab. 19: Vierfeldertafel zum Errechnen der diagnostischen Gütekriterien der Einschätzung der gesamten Läsion durch die Tumorchirurgen

Tumorchirurgen	Histologie			
Makroskopische Beurteilung		kontrollbedürftig	behandlungsbedürftig	
	kontrollbedürftig	8	2	10
	behandlungsbedürftig	7	8	15
		15	10	25

Tab. 20: Vierfeldertafel zum Errechnen der diagnostischen Gütekriterien der Einschätzung der gesamten Läsion durch die Assistenzärzte

Assistenzärzte	Histologie			
Makroskopische Beurteilung		kontrollbedürftig	behandlungsbedürftig	
	kontrollbedürftig	12	7	19
	behandlungsbedürftig	3	3	6
		15	10	25

Tab. 21: Vierfeldertafel zum Errechnen der diagnostischen Gütekriterien der Einschätzung der gesamten Läsion durch die Studenten

Studenten	Histologie			
Makroskopische Beurteilung		kontrollbedürftig	behandlungsbedürftig	
	kontrollbedürftig	32	6	38
	behandlungsbedürftig	7	20	27
		39	26	65

Tab. 22: Vierfeldertafel zum Errechnen der diagnostischen Gütekriterien der Einschätzung der gewählten Areale durch die Tumorchirurgen

Tumorchirurgen	Histologie			
Makroskopische Beurteilung		kontrollbedürftig	behandlungsbedürftig	
	kontrollbedürftig	17	2	19
	behandlungsbedürftig	10	16	26
		27	18	45

Tab. 23: Vierfeldertafel zum Errechnen der diagnostischen Gütekriterien der Einschätzung der gewählten Areale durch die Assistenzärzte

Assistenzärzte	Histologie			
Makroskopische Beurteilung		kontrollbedürftig	behandlungsbedürftig	
	kontrollbedürftig	23	12	35
	behandlungsbedürftig	3	4	7
		26	16	42

Tab. 24: Vierfeldertafel zum Errechnen der diagnostischen Gütekriterien der Einschätzung der gewählten Areale durch die Studenten

Studenten	Histologie			
Makroskopische Beurteilung		kontrollbedürftig	behandlungsbedürftig	
	kontrollbedürftig	47	13	60
	behandlungsbedürftig	8	20	28
		55	33	88

Tiefenscans von gesunden Regionen der Mundhöhle mittels starrer konfokaler Endomikroskopie:

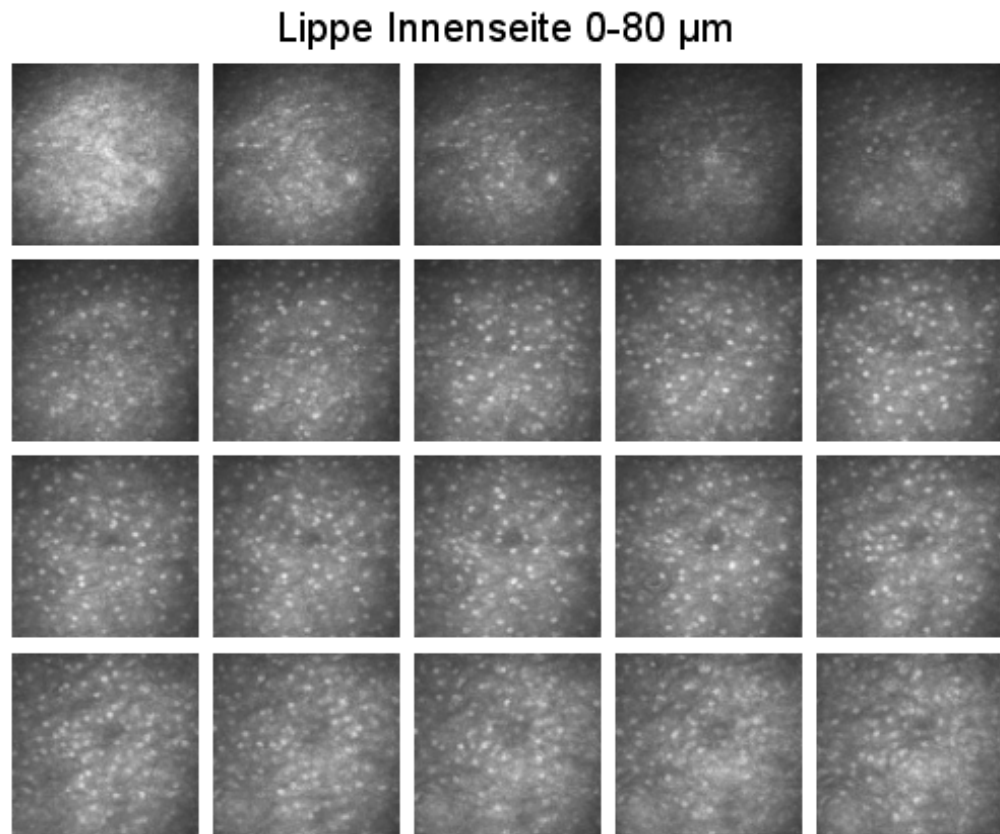


Abb. 28: Scan der Lippe in 0-80 μm Tiefe.

Lippe Innenseite 81-160 μm

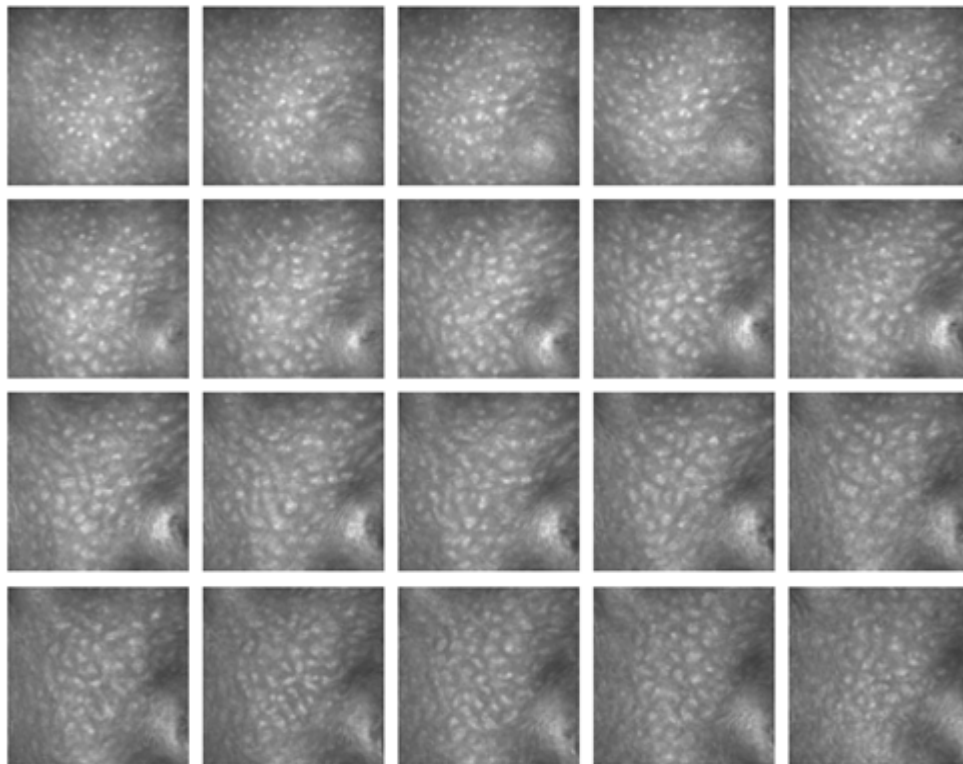


Abb. 29: Scan der Lippe in 81-160 μm Tiefe.

Lippe Innenseite 161-240 μm

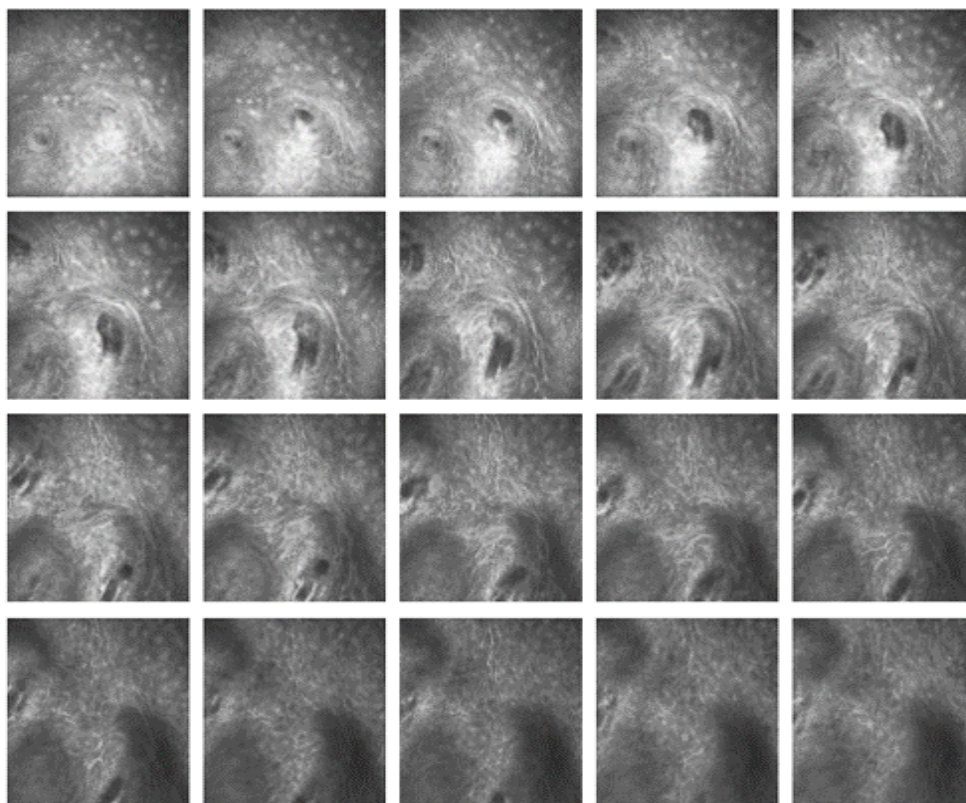


Abb. 30: Scan der Lippe in 161-240 μm Tiefe.

Lippe Innenseite 241-320 μm

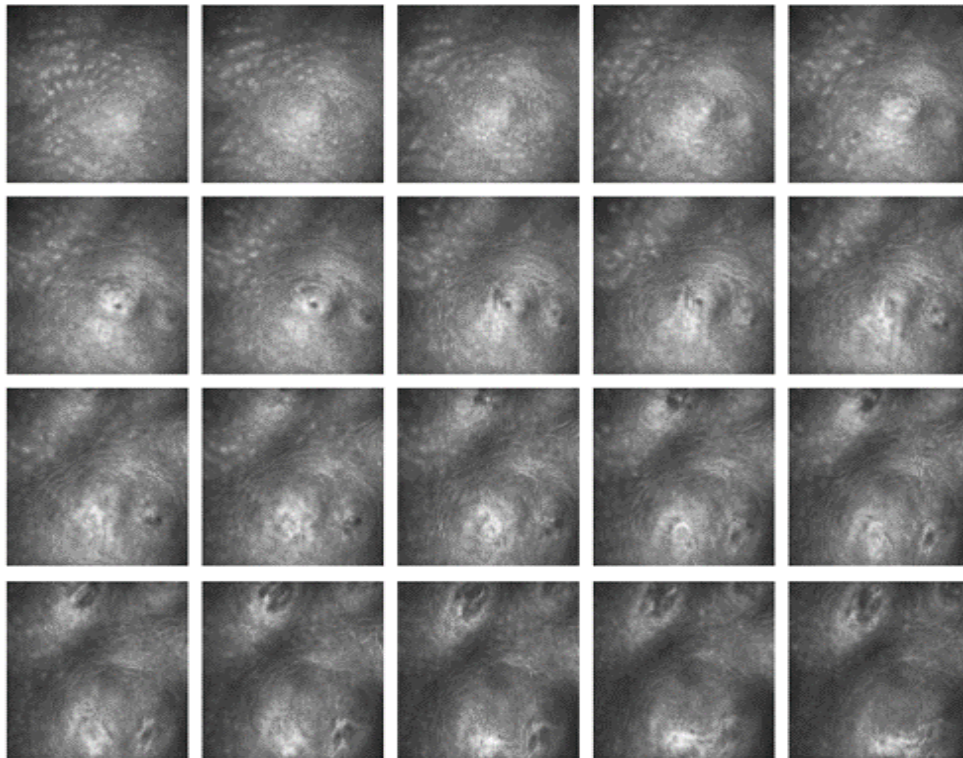


Abb. 31: Scan der Lippe in 241-320 μm Tiefe.

Mundboden Tiefenscan von 0-80 μm

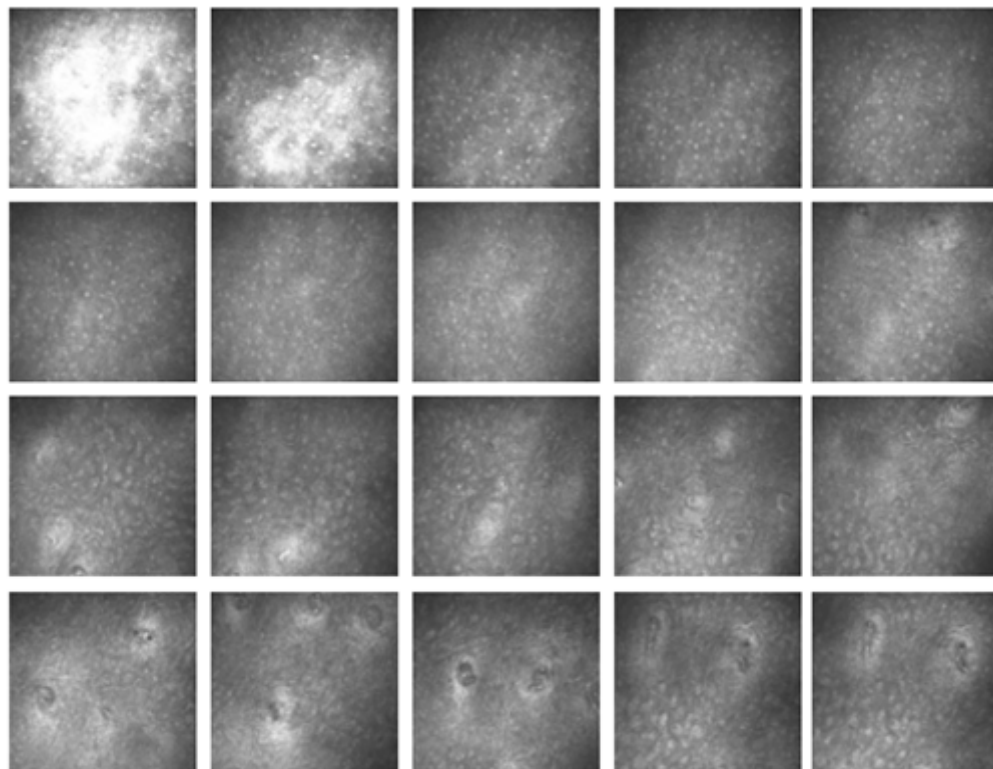


Abb. 32: Scan des Mundbodens in 0-80 μm Tiefe.

Mundboden Tiefenscan von 81-160 μm

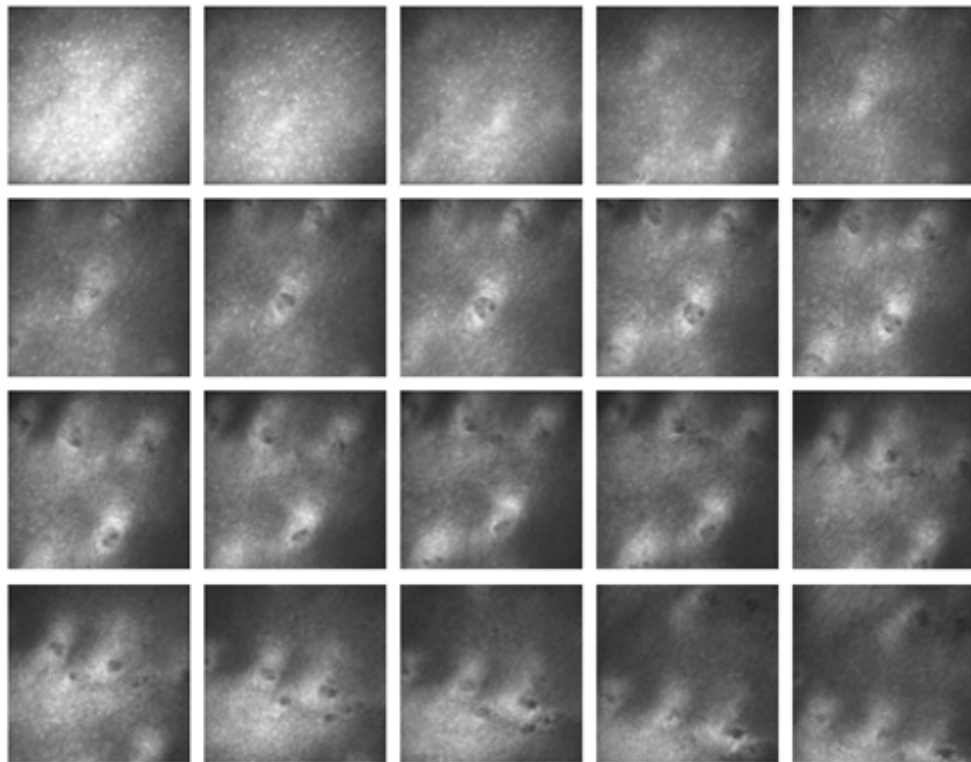


Abb. 33: Scan des Mundbodens in 81-160 μm Tiefe.

Wange Hinten Tiefenscan 0-80 μm

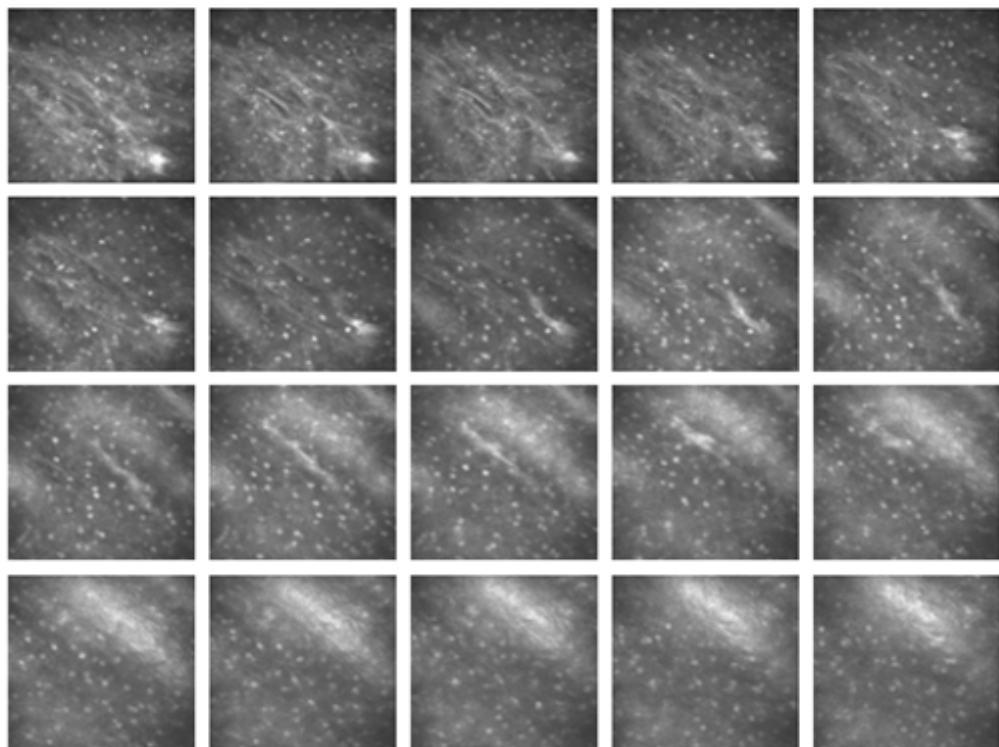


Abb. 34: Scan der Wange in 0-80 μm Tiefe.

Wange Hinten Tiefenscan 81-160 μm

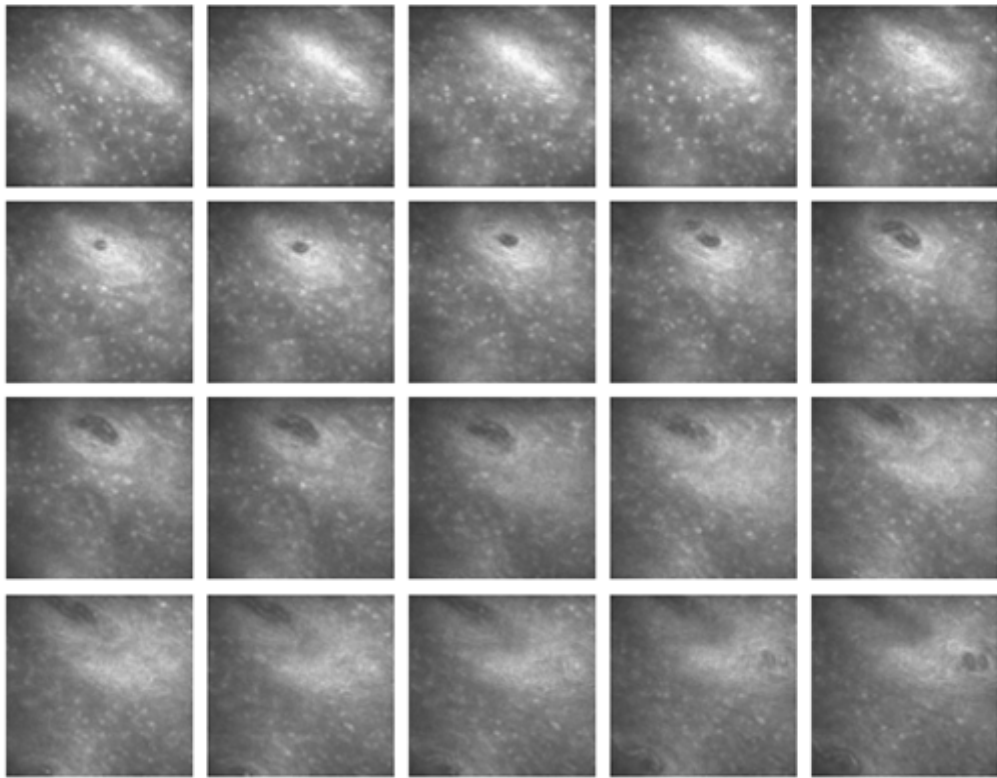


Abb. 35: Scan der Wange in 81-160 μm Tiefe.

Wange Hinten Tiefenscan 161-240 μm

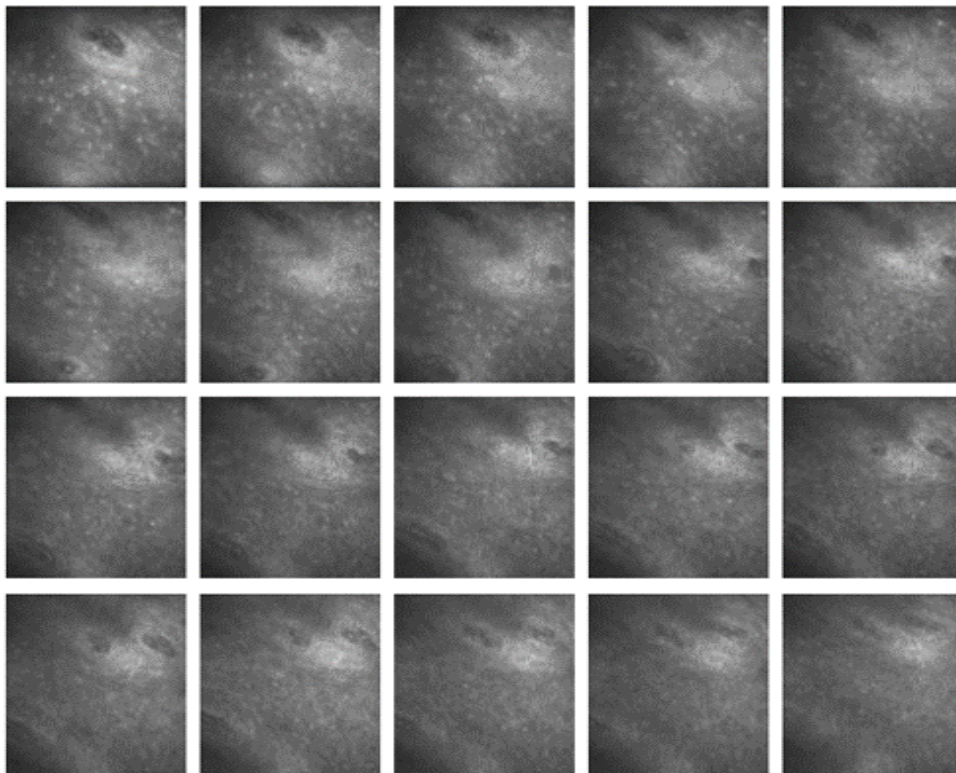


Abb. 36: Scan der Wange in 161-240 μm Tiefe.

Zungenseitenrand Tiefenscan 0-80 μm

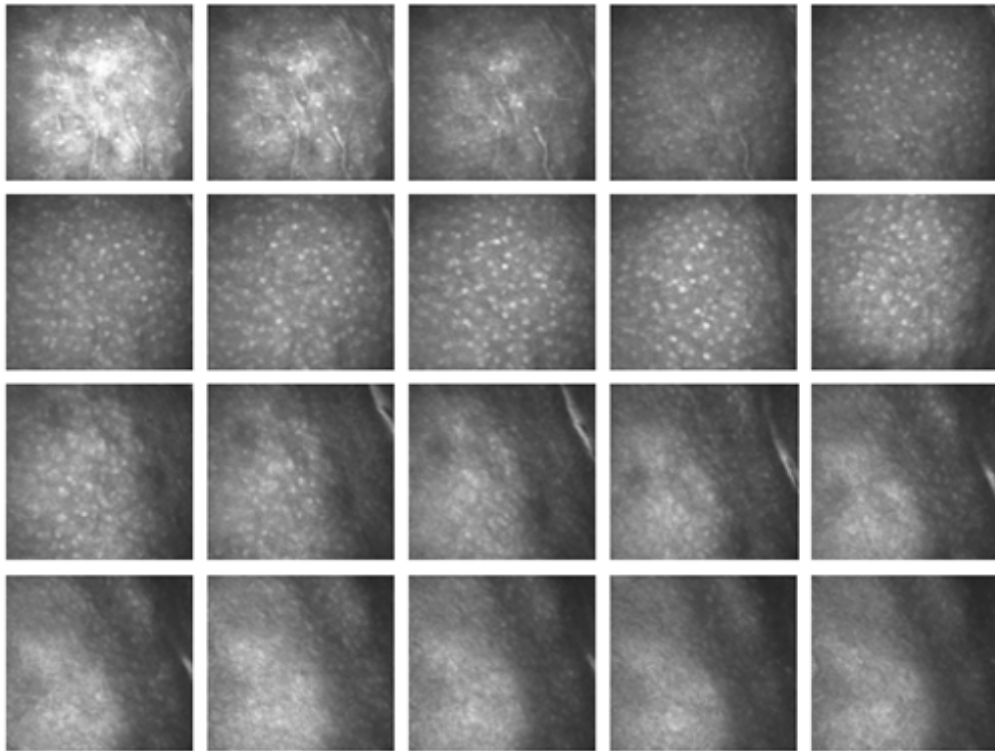


Abb. 37: Scan der Zunge in 0-80 μm Tiefe.

Zungenseitenrand Tiefenscan 81-160 μm

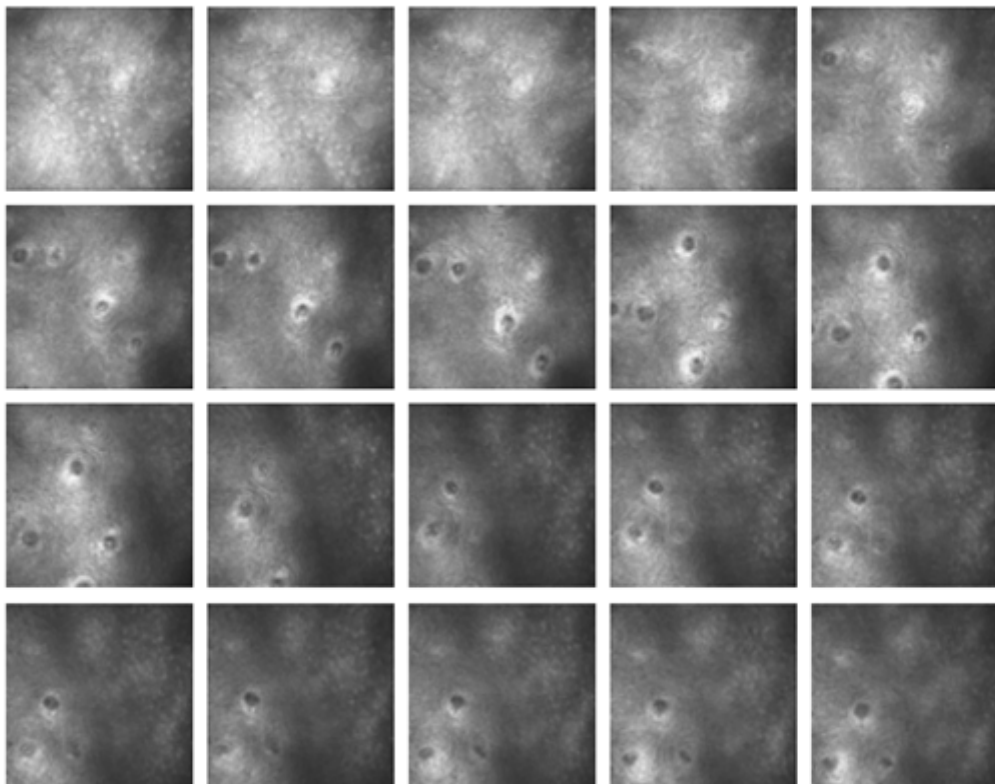


Abb. 38: Scan der Zunge in 81-160 μm Tiefe.

Abbildung der gesunden Mundschleimhaut mittels OCT:

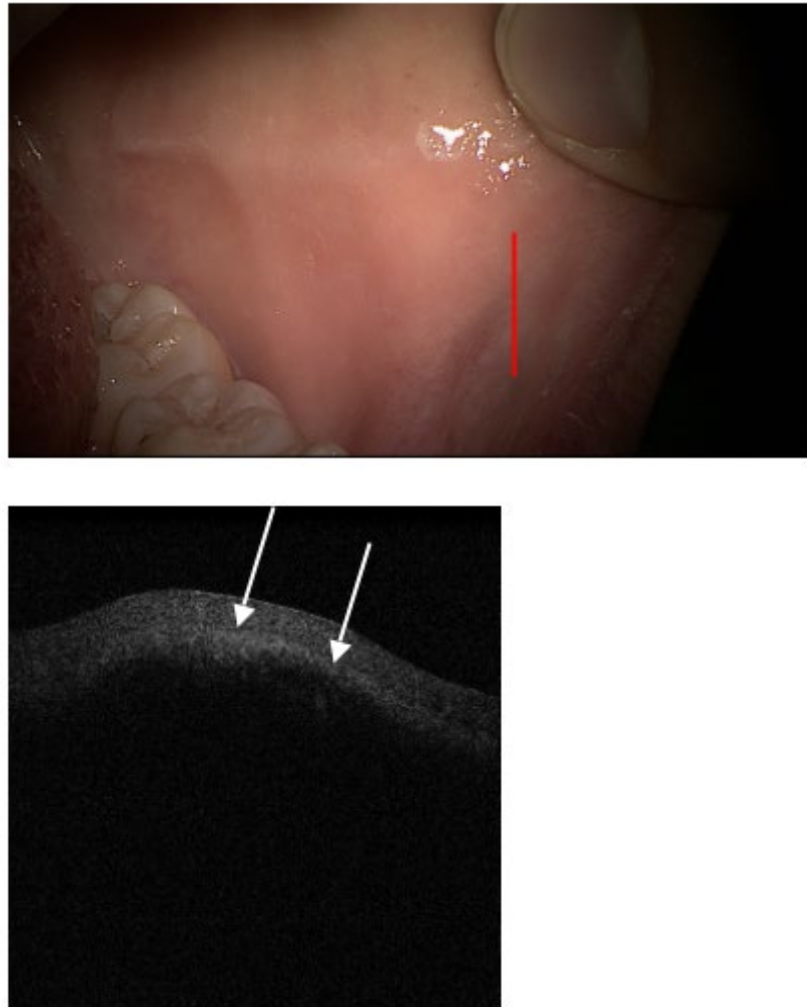


Abb. 39: OCT-Bild einer gesunden Wangenschleimhaut.
Die obere Abbildung zeigt eine gesunde Wangenschleimhaut mit roter Linie in der Scanposition der iOCT. Das untere Bild ist das entsprechende OCT-Bild. Die weißen Pfeile zeigen die Grenzschicht zwischen dem Epithel und der Lamina propria (300x300 DPI) als Korrelat zur Basalmembran.

Doppler measurement=0,000000
Scan angle=n.a.
Data type=B-Scan
Actuator position=530,000000
OCT-lense (Zoom)=83,000000
Iris position=83,000000
Substrate-revolver=Cornea
Number A-Scans X= 1000,000000
Number B-Scans Y=30,000000
Range X [mm]=15,133000
Range Y [mm]=3,783250
Range Z [mm]=n.a.
Zoom microscope=5,240234
Focus microscope=204,000000

Abb. 40: Scanparameter zu Abb. 39.

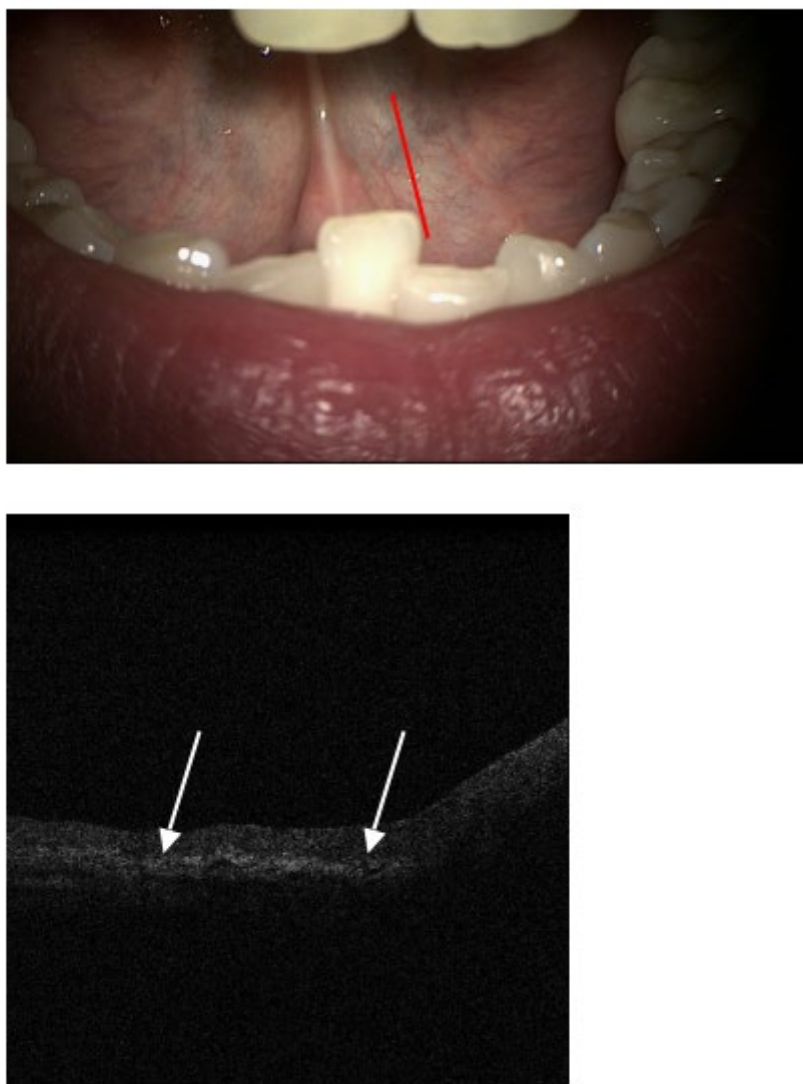


Abb. 41: OCT-Bild eines gesunden Mundbodens.
Die obere Abbildung zeigt eine gesunde Schleimhaut des Mundbodens mit roter Linie in der Scanposition der iOCT. Das untere Bild ist das entsprechende OCT-Bild. Die weißen Pfeile zeigen die Grenzschicht zwischen dem Epithel und der Lamina propria (300x300 DPI) als Korrelat zur Basalmembran.

Doppler measurement=0,000000
Scan angle=n.a.
Data type=B-Scan
Actuator position=582,000000
OCT-lense (Zoom)=83,000000
Iris position=84,000000
Substrate-revolver=Cornea
Number A-Scans X= 1000,000000
Number B-Scans Y=30,00000
Range X [mm]= 15,133000
Range Y [mm]=3,783250
Range Z [mm]=n.a.
Zoom microscope=5,240234
Focus microscope=206,000000

Abb. 42: Scanparameter zu Abb. 41.

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Franziska Berger
Anschrift: Ludwigstraße 6, 18055 Rostock
E-Mail: franziska.berger90@gmx.de
Geburtsdatum: 05.08.1990
Geburtsort: Magdeburg
Familienstand: ledig

Schulbildung

2003-2009: Besuch des Kurfürst – Joachim – Friedrichs – Gymnasium
in Wolmirstedt
Schulabschluss 19.06.2009: Abitur

Studium

2009-2016: Studium der Humanmedizin an der Universität Rostock
Dez. 2016: Erhalt des Staatsexamens Humanmedizin
Jan.-Juni 2017: Promotionsstudium

Berufserfahrung

Juni 2017 – dato: Ärztin in der Klinik für Anästhesiologie und Intensivmedizin
der Universitätsmedizin Rostock

Danksagung

Ich danke meinem Dr. Vater Prof. Dr. Tino Just für die gute Betreuung.

Außerdem danke ich allen Menschen, die mir geholfen und mich motiviert haben, allen voran meiner Familie, meinen Freunden und meinem Partner.

Vielen Dank auch an Martin für das Probe lesen.

Thesen

1. Karzinome der Mundhöhle und des Rachenraumes zeigen steigende Inzidenzen und hohe Diagnoseraten im T 4 Stadium.
2. Die Überlebensraten hängen vom T Stadium bei Erstdiagnose ab, somit ist die frühe Diagnose essentiell für das Outcome der Patienten.
3. Der Kliniker muss anhand der Makroskopie, der Tastuntersuchung und der Anamnese entscheiden, ob eine orale Läsion biopsiert werden muss oder kontrolliert werden kann.
4. Die korrekte Bewertung von schwer einzuschätzenden Läsionen der Mundhöhle ist von der Erfahrung des Untersuchers abhängig und selbst für erfahrene Tumorchirurgen schwierig.
5. Für die bei bestehender Restunsicherheit von der Leitlinie empfohlene Bürstenbiopsie werden in der Literatur stark schwankende diagnostische Gütekriterien angegeben.
6. Zu untersuchen ist, ob die OCT und die CEM die Unterscheidung zwischen kontroll- und behandlungsbedürftigen Läsionen erleichtern können und somit in der Frühdiagnostik des Mundhöhlenkarzinoms eingesetzt werden sollten.
7. In der vorliegenden Arbeit erreichten beide Verfahren eine Vorhersagegenauigkeit von 82% in der Differenzierung von low- und high-grade Läsionen.
8. Die Kombination der beiden Verfahren ist aufgrund der sich ergänzenden Eigenschaften sinnvoll.
9. Die OCT stellt das Gewebe im Querschnitt dar und hat die höhere Penetrationstiefe, die CEM erstellt horizontale Schnitte und lässt aufgrund der hohen Auflösung die Beurteilung des Gewebes mittels histologischer Kriterien zu.
10. Normaldaten der Epitheldicken der verschiedenen Regionen der Mundhöhle zur Setzung von Cutoffs zwischen low- und high-grade Läsionen sollten generiert werden.
11. Die Bewertung der CEM-Bilder erfordert histopathologische Kenntnisse und die Erfahrung des Untersuchers.
12. Vor allem die OCT wird als zukunftsträchtiges Verfahren in der Frühdiagnostik von oralen Läsionen angesehen.